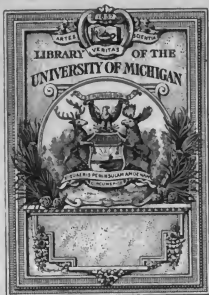




Archiv für Protistenkunde







0237

Archiv

für

Protistenkunde

begründet von

Dr. Fritz Schaudinn,

herausgegeben

von

Dr. M. Hartmann und **Dr. S. von Prowazek**
Berlin. Hamburg.

Neunter Band.

Mit 18 Tafeln und 100 Textfiguren.



JENA.

Verlag von Gustav Fischer.

1907.

Inhaltsübersicht.

Erstes Heft.

	Seite
<u>PRANDTL, HANS: Der Entwicklungskreis von Allogromia sp. (Mit Tafel I und 5 Textfiguren)</u>	1
<u>PROWAZEK, S.: Die Sexualität bei den Protisten</u>	23
<u>HUCKER, KURT: Ein Beitrag zur Phylogenie der Thalamophoren. (Mit 2 Textfiguren)</u>	33
<u>GARBOWSKI, LUDWIK: Gestaltsänderung und Plasmoptoyne. (Mit Tafel II)</u> . .	53
<u>HOOGENRAAD, H. R.: Zur Kenntnis von Hyalodiscus rubicundus HERTWIG n. LESSER. (Mit 21 Textfiguren)</u>	84
<u>JAPPÉ, J.: Spirochaeta culicis nov. spec. (Mit Tafel III und 2 Textfiguren)</u> .	100
<u>SCHOUTEDEN, H.: Notes sur quelques Flagellés. (Mit 11 Textfiguren)</u> . . .	106
<u>NERESHEIMER, EUGEN: Nochmals über Stentor coerulens</u>	137
<u>HÄCKER, VALENTIN: Zur Statik und Entwicklung des Coelographidenskelettes. (Mit 20 Textfiguren)</u>	139
<u>KRÄNZLIN, HELENE: Zur Entwicklungsgeschichte der Sporangien bei den Trichien und Arcyrien. (Mit Tafel IV und 7 Textfiguren)</u>	170

Zweites und drittes Heft.

<u>ENRIQUES, PAOLO: La coniugazione e il differenziamento sessuale negli Infusori. (Mit Tafel V—VIII und 2 Textfiguren)</u>	195
<u>SCHELLACK, C.: Über die Entwicklung und Fortpflanzung von Echinomera hispida (A. SCHN.). (Mit Tafel IX—XI und 3 Textfiguren)</u> . . .	297
<u>MERCIER, L.: Recherches sur les bactéroïdes des Blattides. (Mit Tafel XII—XIII)</u>	346
<u>SCHREÖDER, OLAV: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Myxosporidien. Sphaeromyxa labralesi (LAVERAN u. MESNIL). (Mit Tafel XIV—XV und 3 Textfiguren)</u>	359
<u>KUNZE, WILHELM: Über Orcheobins herpobdellae SCHUBERG u. KUNZE. (Mit Tafel XVI—XVIII und 14 Textfiguren)</u>	381
<u>BORGHEAT, A.: Über ein paar interessante neue Protozoenformen aus dem Atlantischen Ozean und Anderes. (Mit 10 Textfiguren)</u>	430

Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

(Aus dem Zoologischen Institut München.)

Der Entwicklungskreis von *Allogromia* sp.

Von

Hans Prandtl.

(Hierzu Tafel I und 5 Textfiguren.)

Wie ich schon bei der Schilderung des Degenerationsprozesses von *Amoeba proteus* bemerkte, war eine der Amöbenkulturen im Herbst 1905 gleichzeitig von einem einzelligen, Gameten bildenden Parasiten befallen. Da ich jedoch damals die Untersuchung über den Entwicklungskreis dieses Parasiten nicht abschließen konnte, mußte ich eine Wiederholung der Infektion abwarten. Es stellte sich nämlich heraus, daß das Tier im vegetativen Zustand nicht parasitierte, sondern ein freilebender Rhizopode war und nur zur Gametenbildung in die Amöben kroch. Nachdem ich die vegetative, freilebende Form des Tieres den ganzen Winter über weitergezüchtet hatte, hatte ich im Frühjahr 1906 des öfteren die Freude, an Gameten bildenden Tieren meine Beobachtungen vervollständigen zu können.

Bevor ich den Entwicklungszyklus des zeitweiligen Parasiten schildere, möchte ich erst seine vegetative Form abhandeln, da ich von dieser trotz ihrer anscheinenden Häufigkeit, wohl wegen ihrer geringen Größe, in der Literatur keine Beschreibung finden konnte. Ihrem Habitus nach gehört sie zu den Süßwassertestaceen, und zwar zur Gattung *Allogromia* (RHUMBLER 1903). Ihre Schale ist eiförmig mit schwach variierendem Längen-Breitenverhältnis, im Querschnitt kreisrund, vollkommen durchsichtig und strukturlos. Bei lebenden Tieren ist sie selten gelblich, öfters dagegen, wenn der Weichkörper abgestorben ist. Anorganische Ein- oder Anlagerungen

der ohnehin sehr kräftigen, starren Schale habe ich nie beobachtet. Am spitzen Pol liegt central eine einzige, nicht sehr große, runde Schalenöffnung ohne jede Andeutung einer halsartigen Verlängerung der Schale (Fig. 1, ebenso Fig. 2, schräg nach unten gekehrt). Entlang der Öffnung scheint der Schalenrand schwach verdickt zu sein. Die Länge der Schale beträgt im Mittel $18\ \mu$. Doch kommen häufig Abweichungen hiervon nach oben und unten vor. So sind die Allogromien der Fig. 3 u. 4 extrem groß. Als größtes Maß fand ich eine Länge von $23,5\ \mu$.

Das Protoplasma ist äußerst feinkörnig, klar und durchsichtig-farblos. Bei Anwendung schwacher Systeme ist deshalb oft nur die Schale zu sehen. Als Einschlüsse beobachtete ich kleine Algen und Diatomeen, doch scheint die Hauptnahrung in verwesenden organischen Substanzen zu bestehen.¹⁾ Das Plasma füllt entweder den ganzen Binnenraum der Schale aus (Fig. 1 u. 2), oder es quillt bis zur Hälfte aus ihr heraus (Fig. 3), sich mit zarten Plasmafäden in ihr verankernd. Diese Plasmafäden sind auch am lebenden Tier prachtvoll zu sehen. Sitzt das Tier in Detritusmassen, die ihm am meisten zu behagen scheinen, halb vergraben, so sieht man selten Pseudopodien, sondern das Plasma fließt in breiten Lappen aus der Schale hervor (Fig. 1 u. 3). Ist das Tier dagegen auf der Suche nach Nahrung, so streckt es äußerst zarte, hyaline Pseudopodien aus, welche das Dreifache der Schalenlänge erreichen können. Sie sind sehr beweglich, führen ziemlich rasche kreisende Bewegungen aus, knicken plötzlich an einer Stelle ab und können sehr rasch ihre Form und Zahl ändern. Sie besitzen ihrer ganzen Länge nach eine ziemlich gleichmäßige Breite und sind an ihren Enden abgerundet (Fig. 2). Sie bewegen den Körper gleichmäßig gleitend ohne Ruck von der Stelle. Die Schalenöffnung kann dabei rechtwinklig zur Bewegungsrichtung gestellt sein. Als durchlaufene Strecke wurden pro Minute $20\ \mu$ gemessen, also mehr, als die Körperlänge des Tieres beträgt. Am Grund der Schale findet sich in der Nähe des Kernes eine kontraktile Vakuole, welche in fast genau einer Minute pulsiert. Doch sah ich auch ein Tier mit zwei kontraktilen Vakuolen zu beiden Seiten des Kernes, welche je 2 Minuten Pulsationszeit hatten, aber nicht gleichzeitig zusammenklappten. Der große Kern, der auch im Leben stets leicht in der Mitte des Schalengrundes zu finden ist, besteht aus einem centralen chromatischen Nukleolus, meist mit einer oder zwei hellen Vakuolen und einem achromatischen Netzwerk.

¹⁾ Herr Dr. DORLEIN züchtete die Tiere auf reinem Algenrasen. Sie gediehen hierbei sehr gut und nahmen verhältnismäßig große Algen in sich auf.

das gewöhnlich in der unmittelbaren Umgebung des Nukleolus sehr weitmaschig ist, weiter nach der Kernmembran zu dagegen engmaschig. Die Alveolenwand, welche die weiten und engen Maschen trennt, ist häufig so gespannt, daß sie als eine zweite Kernmembran innerhalb der eigentlichen Membran erscheint (unterer Kern der Fig. 4). Der Kernmembran sieht mau oft schon im Leben ziemlich stark lichtbrechende Körnchen anliegen (Fig. 1), die bei der Färbung stark chromatisch erscheinen (Fig. 3 u. 4). Es sind die bei so vielen Süßwassertestaceen (*Arcella*, *Chlamydothrys*, *Centropyxis*, *Diffugia*, *Euglypha*) nachgewiesenen Chromidien. Sie sind verschieden stark ausgebildet, besonders nach längerer, vegetativer Vermehrung erfüllen sie oft einen großen Teil des im Schalenfundus befindlichen Protoplasmas. Für die Entstehung der Chromidien aus dem Kern der *Allogromia* dürfte Fig. 5 sprechen, in der viele Chromatinpartikelchen in Wanderung vom Nukleolus zur Kernmembran begriffen sind. Die Membran selbst ist infolge des ihr innen und außen dicht anliegenden Chromatins undeutlich. Zweikernige (Fig. 4) oder auch dreikernige Tiere kommen vereinzelt vor, sie sind größer als die einkernigen. Ihre Entstehung konnte ich nicht verfolgen. Eine Verklumpung mehrerer Tiere nach Art der *Microgromia socialis* konnte ich niemals beobachten. Von Teilungsstadien habe ich nur sehr spärliches Material. Sie scheint analog den übrigen bisher beschriebenen Fällen von Teilung bei beschalteten Süßwasserrhizopoden vor sich zu gehen. Fig. 6 stellt in Konturen den sich bereits durchschnürenden Plasmakörper einer *Allogromia* dar, der Kern ist erst in Wanderung nach der Teilungsebene begriffen. Am Nukleolus sind keinerlei Umgestaltungen zu bemerken; er scheint sich demnach amitotisch zu teilen. Die Schalenverhältnisse des Tieres konnte ich leider nicht verfolgen, da die Schalen in Nelkenöl entweder ganz verschwinden, wie im vorliegenden Fall, oder zerknittern. An einem lebenden Tier sah ich einmal, leider nur bei schwacher Vergrößerung, einen Kern in weniger als 5 Minuten sich lang ausdehnen, die Tochterstücke an die Basis der beiden Plasmaleiber rücken und die lange Verbindungsbrücke abreißen. Aus dieser Schnelligkeit der Teilung erklärt sich, warum ich auch in Präparaten aus reich besetzten Kulturen nur ungenügendes Material von Teilungsstadien fand. Aus einem Präparat von lauge gezüchteten Tieren stammt ebenso wie Fig. 5 auch Fig. 7. Sie stellt einen Kern in typischer Depression dar. Der Chromatinnukleolus hat sich in zwei Portionen geteilt, den Raum des achromatischen Kerngerüsts füllt eine ziemlich stark chromatische, vakuolisierte Masse aus. Die Kernmembran

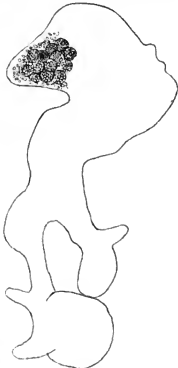
ist teilweise aufgelöst, so daß an dieser Stelle der Kern und das ebenfalls stark vaknolige Plasma ohne Grenze ineinander übergehen. Vor dem Absterben verlassen die Tiere ihre Schale und kriechen amöbenartig umher. Bei der Encystierung scheidet die *Allogromia* außerhalb ihrer Schale noch eine zweite gallertig aussehende, hyaline Hülle ab, der Plasmakörper kugelt sich ab und nimmt nur mehr etwa die Hälfte des Schalenraumes ein.

Wegen der Benennung der beschriebenen *Allogromia* mit einem Speziesnamen bin ich in einiger Schwierigkeit. Durch die Freundlichkeit Herrn Dr. DOFLEIN's wurde ich darauf aufmerksam gemacht, daß METSCHNIKOFF in seinen „Leçons sur les inflammations“ einen Parasiten aus *Amoeba proteus* beschreibt und mit einem Namen belegt, bei dem es sich mit einiger Wahrscheinlichkeit um dasselbe Objekt handelt wie im vorliegenden Fall. Da ich das Buch jedoch nicht erhalten konnte, muß ich einstweilen darauf verzichten, der *Allogromia* einen Speziesnamen zu geben.

Die geschlechtliche Fortpflanzung. Tötet man in einer Kultur zur Zeit einer geschlechtlichen Epidemie die noch übrig gebliebenen vegetativen Formen ab, so findet man in diesen einen sehr starken Chromidiengehalt des Plasmas, die Tiere verlassen ihre Schale und suchen nach Möglichkeit irgend ein anderes Protozoon auf, um innerhalb desselben ihre geschlechtliche Generation, die Gameten, zu erzeugen. Mein weitaus größtes Untersuchungsmaterial für das Studium dieses Prozesses lieferte mir eine Kultur von *Amoeba proteus*, welche letztere an Degeneration kranke und infolgedessen um so leichter ein Opfer der Allogromien wurde, die während ihrer vegetativen Zeit umgekehrt von *Amoeba proteus* gefressen wurden. Eine Infektion der Amöben erzielte ich sowohl im Herbst 1905 als auch im Frühjahr 1906. Außerdem wurden die Gameten bildenden Allogromien auch noch bemerkt in *Arcella*, *Nuclearia* (Fig. 8), ja selbst in *Paramaccium*. Von letzterem weiß ich allerdings nicht, ob es nicht bei der Infektion schon abgestorben war. Im Frühjahr 1906 erhielt zuerst Herr Dr. MARCUS beim Anfertigen eines Präparates aus einer Kultur, die den ganzen Winter überdauert hatte, auch Bilder, die zeigten, daß die Allogromien in Ermangelung geeigneter Wirtstiere auch im freilebenden Zustande Gameten bilden können. Ich fand diese interessante Beobachtung später noch mehrfach bestätigt. Die Schädigung, welche das Wirtstier durch die Infektion erleidet, scheint verhältnismäßig nicht sehr groß zu sein. Ich habe Präparate von *Amoeba proteus*, die nur noch wenige nicht anschwärmte Gameten enthalten, die also den

ganzen Infektionsprozeß hinter sich hatten und trotzdem keine pathologischen Veränderungen zeigten. Die Fig. 18 u. 22 stellen gewiß stark infizierte Amöben vor, nichtsdestoweniger waren aber beide beim Abtöten in lebhafter Pseudopodienbildung begriffen. Die Amöbe der Fig. 18 hatte sogar noch einen Futterkörper. Wenn Amöben trotzdem absterben, so wird dabei wohl der von den eingedrungenen Parasiten unabhängige degenerative Zustand der Tiere eine große Rolle spielen.

Meine ersten Beobachtungen machte ich am lebenden Objekt. Ich benutzte zu diesem Zwecke eine infizierte Amöbe, die im hängenden Tropfen kultiviert wurde. Leider mußte ich, um die Amöbe auf diese Weise längere Zeit halten zu können, den Tropfen so groß nehmen, daß ich meine Beobachtungen nur mit Lerrz' Objektiv 5 machen konnte. Ehe die Gameten gebildet waren, konnte ich auf diese Weise nur zahlreiche homogene, helle, runde Kugeln im Plasma der Amöbe sehen. Wieviel Tage die Reifungszeit der Gameten etwa in Anspruch nimmt, kann ich nicht angeben, da ich leider vergaß, hierüber Aufzeichnungen zu machen. Auf jeden Fall vergingen über den Prozeß mehrere Tage. Am 13. November war der Inhalt der hellen Kugeln in zahlreiche Körnchen zerfallen, die Amöbe war ganz mit solchen körnchenhaltigen Kugeln erfüllt, wie es in Textfig. 1 teilweise eingezeichnet ist. Eine getreue Wiedergabe der ganzen Amöbe mit ihren Parasiten erlaubte ihre ganz außergewöhnliche Beweglichkeit nicht. Beim Umherfließen des Plasmas stauten sich die Kugeln mit ihrem körnigen Inhalt vor jeder Verengung des Plasmaleibes der Amöbe. Sie waren starr und unnachgiebig; daher konnten sie auch nicht in die feinsten Pseudopodien vordringen.



Textfig. 1.

Am 15. November mußte ich das stark verdunstete Wasser im hängenden Tropfen durch Zusatz von neuem Wasser ergänzen, doch

genügte diese Erschütterung, um die Amöbe mit einem Ruck zum Platzen zu bringen. Aus ihr heraus ergoß sich eine Wolke, bestehend aus unendlichen Mengen der kleinen runden Körnchen, die



o o

a

Textfig. 2.

sich augenblicklich gleichmäßig im ganzen Tropfen verbreiteten (Textfig. 2a). Es waren die aus ihrer Hülle befreiten Gameten. Von der *Amoeba proteus* blieb nichts weiter übrig als das Ektosark. Die Gameten blieben etwa eine Viertelstunde ruhig liegen.

dann setzten leise zitternde Bewegungen ein, die schnell stärker wurden. Schon wenige Minuten später konnte ich in dem Geflimmer öfters je zwei Gameten mit einander verkleben und verschmelzen sehen (Textfig. 2b). Schließlich streckten sich die Gebilde in die Länge und bewegten sich wackelnd im Zickzack mittels eines Flagellums, wie ich bei der schwachen Vergrößerung sah. Im Innern war eine kontraktile Vakuole sichtbar. Erst an einem später gewonnenen Material beobachtete ich den Bau der aus den kopulierten Gameten entstandenen Flagellaten genauer. Wegen der Kleinheit der Objekte (die Flagellaten betragen durchschnittlich 4μ in der Länge) mußte ich darauf verzichten, sie mittels Zeichnungsapparat wiederzugeben. Fig. 21 ist mit freier Hand sehr stark vergrößert gezeichnet. Der Flagellat ist ein unzweifelhafter Heteromastigode mit einer starken Schleppgeißel, die in der vorderen Tierhälfte, soviel ich erkennen konnte, in einer seitlichen Vertiefung entspringt, dann nach hinten umbiegt und mit ihrem freien Ende das Tier an der Unterlage meist fest verankert. Das zweite, neben der Schleppgeißel entspringende Flagellum, das mir bei der ersten Beobachtung entgangen war, ist äußerst zart und stets in so heftiger Schwingung, daß ich seine Länge nicht genau feststellen konnte. Es bewirkt die wackelnden Bewegungen des Tierkörpers; gibt die Schleppgeißel ihren Stützpunkt an, so schnellt sich das Tier mit einem plötzlichen Ruck um viele Körperlängen fort, um sich aufs neue festzusetzen oder auch einige Zeit wackelnd frei zu schwimmen. Nach hinten von der Ursprungsstelle der Geißeln liegt die kontraktile Vakuole, die nicht ganz 15 Sekunden von einer Systole zur nächsten braucht. Der Kern ist im Leben nicht sichtbar, doch fand ich ihn auf Präparaten in der Mitte des Körpers liegen. Er besteht ebenso wie die Kerne der Allogromien und Gameten aus einer großen achromatischen Blase mit Chromatinnukleolus. Den hinteren Abschnitt des Flagellatenkörpers erfüllen gröbere Körnchen, anscheinend Nahrungsbestandteile, aus. Die Tiere hielten sich, wohl aus Sauerstoffbedürfnis, am liebsten am Rande des Tropfens auf. Mehrere Tage konnte ich

an der Unmenge der Flagellaten keine Veränderungen bemerken, bis ich am 20. November eine große Anzahl kleiner Amöben sah, welche meist dieselbe Größe wie die Flagellaten besaßen, teils aber auch schon größer waren (Textfig. 3). Ihre oft ziemlich langen Pseudopodien waren vollkommen hyalin und führten ziemlich rasche, häufig auch kreisende Bewegungen aus, wie die Pseudopodien der Allogromien. Im Innern der größeren Tiere waren Vakuole und Kern sichtbar. Am 22. November waren schon viele Amöben stark herangewachsen und ein Teil davon hatte eine Allogromienschale



Textfig. 3.



Textfig. 4.

bekommen. Am 24. November waren alle größeren Amöben verschwunden, dafür hatte die Zahl der Allogromien sehr stark zugenommen, einige von letzteren hatten Cysten gebildet. Bemerken muß ich noch, daß ich und ebenso Herr Dr. MARCUS unter den kleinen Amöben öfters heliozoenartige Exemplare traf, welche äußerst zarte Pseudopodien radial nach allen Richtungen ausstreckten (Textfig. 4). Ob diese Tiere aber wirklich zu den *Allogromia*-Amöben gehören, kann ich nicht sicher behaupten.

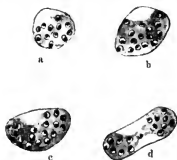
Mit meinen Befunden über die Kopulation der Gameten und ihre Verwandlung in Flagellaten übereinstimmende Beobachtungen machte im Frühjahr 1900 Herr Dr. MARCUS. Herr Dr. MARCUS beobachtete an den Flagellaten auch Längsteilung, welche vom Hinterende begann. Man sieht in der Kultur stets auch alle Übergänge von schmal lanzettlichen Tieren zu dickbauchigen. Durch öfteres Isolieren weniger Flagellaten konnte konstatiert werden, daß sie sich etwa 10 Tage lang stark vermehrten, alle aus ihnen entstehenden kleinen Amöben gingen jedoch nach kurzer Zeit zugrunde, da sie wohl infolge der zu sauberen Isolierung keine geeignete Nahrung fanden. Einige Flagellaten hielten über einen Monat aus.

Bei der Schilderung der Veränderungen im Kernapparat der *Allogromia*, welche zur Gametenbildung führten, kann ich mich nicht auf Beobachtungen am lebenden Tier stützen, da sich die infizierten Amöben zu rasch fortbewegten, sondern ich habe den Entwicklungsgang anschließend aus fixiertem Material kombiniert. Als Fixationsmittel wurde Pikrinessigsäure benutzt, zum Färben zeigte sich nach

verschiedenen Proben die HEIDENHAIN'sche Methode als die geeignetste. Untersucht wurden die Tiere auf Totalpräparaten innerhalb der Amöben in Nelkenöleinschluß.

Fig. 9 zeigt sechs verschieden große Allogromien ohne Schale frisch in eine *Amoeba proteus* eingedrungen. Sie lassen bereits die ersten Veränderungen im Chromatin erkennen. Ein sehr starkes Chromidialnetz umlagert den Kern, dessen Nukleolus in viele Zipfel ausgezogen ist, welche teilweise bis an den Chromidialring heranreichen. Ich glaube diese unregelmäßige Gestalt als ein Zeichen lebhafter Chromatinabgabe seitens des Nukleolus an das Plasma ansehen zu dürfen. Ein eben eindringendes Tier in amöboidem Zustand, das bereits etwas weiter fortgeschritten ist als die Allogromien der Fig. 9, zeigt uns Fig. 10 bei stärkerer Vergrößerung. Von einer Kernmembran und einer achromatischen Zone des Kerns ist nichts mehr zu sehen, der Nukleolus fließt in das Chromidialnetz über. Letzteres hat sich, pseudopodienartige Fortsätze ausstreckend, schon weit im Plasma ausgebreitet. Ein ähnliches Stadium gibt Fig. 11, die einem nicht parasitären Tier entnommen ist. Die *Allogromia* besitzt gleichfalls keine Schale, der Nukleolus ist noch etwas kompakter als in Fig. 10. Die in den Fig. 10 u. 11 gezeichneten Tiere stammen aus einer Kultur, in der sich nur wenige *Amoeba proteus* neben unzähligen Allogromien befanden, weshalb die Allogromien eine starke Tendenz zeigten, freilebend Gameten zu bilden. In Fig. 12 sehen wir bereits das ganze Plasma von Chromatin erfüllt. An vielen, gleichmäßig verteilten Punkten haben sich Konzentrationsherde für die Chromidien gebildet. Eine Zählung dieser Ansammlungspunkte war mir nicht möglich. Vom Nukleolus des alten Kernes ist noch ein ansehnlicher Rest vorhanden. Die *Allogromia* parasitierte ebenso wie alle in den folgenden Abbildungen wiedergegebenen Tiere in *Amoeba proteus*. In Fig. 13 sind die neugebildeten Chromatinklumpen (Sekundärkerne), soweit ich bei dem ungeheuren Chromatinreichtum des Plasmas erkennen kann, sämtlich hantelförmig durchschnürt; sie sind offenbar in Teilung begriffen. Von einem Rest des alten Kernes kann ich nichts mehr erkennen. In Fig. 14 hat sich um jedes der Chromatinklumpchen eine zarte Membran gebildet, so daß wir nunmehr eine Menge kleiner, typischer Kerne mit achromatischem Raum und Chromatinnukleolus vor uns haben. Die Mitte des Tieres nimmt noch ein Rest des alten Kernes ein, während die kleinen Kerne den ganzen peripheren Teil des kugeligen Plasmas erfüllen. Ihre Zahl beträgt über 30. Der Zeitpunkt, auf dem der letzte Überrest des alten Nukleolus verschwindet,

scheint, nach den Fig. 13 und 14 zu schließen, ziemlich variieren zu können. Ich bin nicht sicher, ob er ganz im Plasma aufgelöst wird, oder ob er nicht vielleicht angestoßen wird. Bei parasitierenden *Allogromien* ist dies wegen möglicher Verwechslungen mit Futterkörpern nicht sicher zu entscheiden; bei zwei freilebend Gameten bildenden Tieren schien mir außerhalb des Körpers, ihm dicht anliegend, je ein kernartiges Gebilde zu liegen, doch kann auch hier leicht eine Täuschung durch Fremdkörper vorliegen. Ich möchte mich mehr der Ansicht zuneigen, daß der alte Kern ganz im Plasma aufgelöst wird. An Tieren, bei denen die Sekundärkerne bereits Membranen hatten, konnte sehr häufig eine Körperteilung beobachtet werden, Fig. 15. Verschiedene Phasen einer solchen Teilung stellt Textfig. 5 dar (nach fixiertem Material, daher Beeinflussung durch Schrumpfung nicht ausgeschlossen). Ich glaube nicht, daß diesen Körperteilungen eine weitere Bedeutung zukommt als die, durch Verteilung der Masse bessere Ernährungsbedingungen für sie zu schaffen. Daher sind die Teilungsprodukte auch absolut nicht gleichwertig, wie z. B. in Fig. 15 das eine nach annähernder Zählung etwa 23 Sekundärkerne enthält, das andere nur 10.



Textfig. 5.

Kernteilungen konnte ich außer dem in Fig. 13 wiedergegebenen Falle auch bei Tieren mit bläschenförmigem Kern beobachten, doch verläuft hier die Teilung ebenso amitotisch durch Einschnürung des Nukleolus. Ob im ganzen zwei solcher wohl als Reifeteilungen aufzufassenden Teilungen stattfinden, war mir unmöglich, nachzuweisen. Für ein Stadium kurz vor dem Zerfallen des ganzen Plasmas in die Gameten halte ich das der Fig. 16. Die Chromatinnukleoli haben sich sichelförmig den Kernmembranen angelegt, als wollten sie an ihr entlang sich ausbreiten. Wir dürften hier ein Übergangsstadium zu dem im reifen Zustand der Gameten häufig anzutreffenden Zustand vor uns haben, wo das Chromatin in feinen Körnchen im Kernretikulum verteilt ist. Auf den nun folgenden Stadien ist es unmöglich, die *Allogromien* in toto zu färben. War nämlich bisher der Körpersaum genau so durchlässig wie bei jedem anderen Rhizopoden, so wird er jetzt durch Ausscheidung einer Cystenhülle völlig

undurchdringlich für Farbstoffe. Er färbt sich mit Boraxkarmin nur leicht gelblich. Ein Schnitt durch ein solches Tier (Fig. 17) zeigt uns, daß das Plasma in ebenso viele Teile zerfallen ist, als Sekundärkerne vorhanden sind, und daß es sich kugelig um letztere zusammengeballt hat. Ein Restkörper war nicht zu bemerken. Sind die Gameten fertig gebildet, so wird anscheinend die Hülle des Muttertieres resorbiert, wenigstens kommen die Gameten frei ins Plasma der Amöbe zu liegen, ohne daß Reste der alten Membran zu sehen wären. Durch ihre Auflösung werden die Gameten wieder färbbar, sie liegen anfangs noch in runden oder elliptischen Klumpen zusammen wie in der Mutterhülle (Fig. 18), verteilen sich dann aber durch das ganze Plasma des Wirtes. Dabei nehmen sie an Volumen zu, wie ein Vergleich der Fig. 17 u. 19 ergibt, die bei gleicher Vergrößerung gezeichnet wurden. Nun kommt der alveoläre Bau des Plasmas klar zum Vorschein, und in ihm eingestreut liegen zahlreiche chromatische Teilchen. Eine besondere Membran konnte ich an den Gameten nicht nachweisen. Die Bilder der Fig. 20 glanbe ich für Kopulationsstadien ansprechen zu müssen. Zwei wohl nur zufällig etwas verschieden große Gameten sind einander bis zur Berührung genähert. Daneben liegt ein zweikerniger Gamet. In der ganzen Amöbe finde ich nur vier einkernige Gameten, darunter die zwei abgebildeten, und drei zweikernige, alle anderen sind bereits ausgeschwärmt. Außer diesem und einem anderen, fast ebenso beschaffenen Fall konnte ich nie zweikernige Gameten innerhalb der Amöbe beobachten, so daß es sich hier sehr wahrscheinlich um Copulae aus Nachzüglern handelt, die sich beim Ausschlüpfen verspäteten.

Ich möchte zu meinen Bildern noch das eines alten Amöbenpräparats des Münchner Instituts hinzufügen, da hier das Tier einen geradezu unglaublichen Infektionsgrad erreicht hat (Fig. 22). Die Gameten haben bereits ihre Hüllen verlassen und beginnen sich zu zerstreuen. Trotz der gewaltigen Verseuchung ist die Amöbe noch imstande gewesen, zahlreiche Pseudopodien nach allen Richtungen zu senden. Ich bin nicht sicher, ob es sich hier um denselben Parasiten handelt wie bei meinen Amöben. Die Färbung des Präparats ist für den Zweck zu ungünstig, um von den Gameten mehr als rote Flecken erkennen zu lassen: nur hier und da ist in ihnen ein heller Punkt, wohl der Kern, zu sehen.

Literatur: Die von mir geschilderten Vorgänge der Gametenbildung der *Allogromia* innerhalb von *Amoeba proteus* wurden bereits des öfteren in Bruchstücken beobachtet, doch meist verkannt und

für eine geschlechtliche Fortpflanzung der *Amoeba proteus* gehalten. Die Parasiten wurden dabei immer für Kerne der Amöbe gehalten. Dieser Irrtum ist sehr erklärlich, da das ganze Plasma der Gameten bildenden *Allogromia* nach der Auflösung des Kernes so chromatisch ist, als bestände es nur aus Kernsubstanz. Die äußere Begrenzung des Tieres ist so zart, und das Plasma der Amöbe liegt ihr so dicht an, daß man sie ebensogut für eine Kernmembran halten kann. Die Körperteilungen wurden mit Kernteilungen verwechselt. Die Unmöglichkeit der Annahme früherer Autoren erhellt schon daraus, daß die Gameten, welche aus den „Fortpflanzungskernen“ entstehen, aus Kern und Protoplasma bestehen. Es müßte hier also aus reiner Kernsubstanz ein ganzes Tier, also auch das Protoplasma, gebildet werden; doch liegt bis jetzt kein Grund zu einer solchen Annahme vor.

CARTER (63) sah aus einer *Amoeba princeps* (= *proteus*) mit einem Geschlechtskern (nach seiner Abbildung eine *Allogromia* mit Kern in Auflösung) eine zweikernige entstehen. Er fand in verschiedenen Tieren die verschiedensten Kernzahlen bis zwischen 64 und 80. Er betont, daß ihre Zahl nicht immer ein Vielfaches von zwei beträgt. Sie sind rund oder elliptisch. Anfangs sind sie halbdurchsichtig und homogen, später werden sie granuliert und besitzen eine deutliche Kapsel. Die Kapseln sind rund, semiopak und stark lichtbrechend. CARTER konnte in solchen Tieren niemals normale Amöbenkerne finden. Das ist auch sehr verständlich, da CARTER nur lebendes Material untersuchte, und der Kern selbst an gefärbten Präparaten nicht besonders hervortritt, wie Fig. 18 zeigt. Das Ausschwärmen der Gameten wurde von CARTER nicht beobachtet.

Im gleichen Jahre machte WALLICH (63) an *Amoeba villosa* ähnliche Beobachtungen. Da bei seinen Amöben nur eine schwache Infektion (6–12 Parasiten) vorlag, konnte er den unveränderten Amöbenkern meistens auch sehen. Er hält die Parasiten für sperm cells, die Amöbenkerne für germ cells. Er hatte wohl nur gereifte Sporen mit aufgelöster Membran vor sich, da er als Merkmale für die sperm cells den Mangel einer Membran und eines Nukleolus angibt. Auf Druck kamen die Gameten aus der Amöbe heraus und führten zitternde Bewegungen aus, um bald darauf still zu werden (wahrscheinlich abzusterben).

GREEFF (66) sagt, daß aus *Amoeba terricola* runde Körper austreten, welche zu winzigen Amöben werden. Die runden Körper entstehen aus einer feinen Granulation im Plasma, welche angeblich aus dem Kern stammt. Für diese letztere Behauptung hat GREEFF

aber nicht versucht, einen Beweis zu erbringen. GREEFF hatte wohl reife im Plasma verteilte Gameten irgend eines der *Allogromia* verwandten Rhizopoden.

Ich glaube auch die CALKINS'schen (04) Angaben über eine geschlechtliche Generation bei *Amoeba proteus* in dem Sinne deuten zu müssen, daß es sich um einen der *Allogromia* mindestens nahe verwandten Parasiten, wenn nicht um sie selbst handelt. CALKINS hatte nur konserviertes Material zur Verfügung und war bloß auf Kombinationen seiner Bilder angewiesen. Diese scheinen mir nicht sehr glücklich zu sein. Er selbst faßt seine Resultate folgendermaßen zusammen: „The single nucleus divides by mitosis, these daughter-nuclei in turn divide in the same way, and so on until the descendants of the first nucleus number sixty or seventy. Before this number is reached, however, the nuclei begin to disintegrate or break up into chromatin grannules, and these become distributed throughout the cytoplasm. One after another of the nuclei break up in this way until there are only one or two of the large „primary“ nuclei left, while the cytoplasm is now filled with minute particles of chromatin. Many of these particles, if not all, become minute nuclei, and as such, divide by a form of mitosis which is common to the flagellated protozoa, that is, to the centronucleus type. Ultimately these metamorphose into definite nuclei of a common type and the entire cell then encysts. One, at least, of the large nuclei remains unused and can be seen in the encysted stage with undiminished size and characteristic form.“ CALKINS' Bilder sind zu ungenügend und zu fragmentarisch, um seine Behauptungen zu beweisen. Mit den schönen Teilungsfiguren des Kernes von *Amoeba proteus*, welche in der Zwischenzeit von AWERINZEFF (06) gegeben wurden, haben CALKINS' angebliche Teilungsfiguren nichts gemeinsam. Für verschiedene seiner Bilder finde ich Analoga bei den meinen. So könnten seine Fig. 24 u. 27 Taf. III meiner Fig. 14 entsprechen, seine Fig. 20 Taf. III meiner Fig. 17; die Teilung, welche er von seinen Sekundärkernen abbildet, ähnelt sehr der der Sekundärkerne der *Allogromia*, nachdem sie eine Membran erhalten haben. Sehr auffallend ist an den CALKINS'schen Befunden, daß ein alter Amöbenkern unverändert erhalten bleibt, und daß das Plasma während des Fortpflanzungsprozesses ebenso seine Pseudopodien bildet wie im vegetativen Zustand. Das dürfte allein schon zur Vorsicht mahnen.

Glaube ich schon in den angeführten Arbeiten eine teilweise Bestätigung für die Richtigkeit meiner Ansichten erblicken zu

können, so möchte ich doch auch noch darauf hinweisen, daß auch bei anderen, meiner *Allogromia* verwandten Rhizopoden entsprechende Beobachtungen vorliegen und zwar von E. BUCK (73) an der Süßwassermonothalamie *Phonergates vorax*, sowie an einem Rhizopoden (sive Flagellaten), den BUCK für identisch mit *Pseudospora parasitica* hält, ferner von SCHAUDINN (03) hauptsächlich bei *Chlamydomyces stercorea* und von M. ROBERTSON (05) bei *Pseudospora volvocis*.

Phonergates vorax ist nach BÜTSCHLI identisch mit *Lecythium hyalinum* (H. n. L.). Von meiner *Allogromia* unterscheidet er sich durch den Besitz einer biegsamen, im Leben kaum sichtbaren Schale von kugelförmiger Form mit halsförmiger Verlängerung und durch die bedeutendere Größe der Tiere, die im ausgewachsenen Zustand 30 μ lang sind. Im übrigen zeigen *Phonergates vorax* und meine *Allogromia* außerordentlich viele Übereinstimmungen. *Allogromia* lebt für gewöhnlich frei und nährt sich von kleinen Algen, liebt aber auch eine saprophytische Lebensweise, wenn ihr in Gestalt eines abgestorbenen Protozoons Gelegenheit hierzu geboten wird. Zur Zeit der Gametenbildung wird sie nach Möglichkeit zum vollendeten Parasiten. *Phonergates vorax* nährt sich im freilebenden Zustand von großen Diatomeen, parasitiert aber auch gerne in Protozoen, Rotatorien und niederen Crustaceen, die er ganz ausfrisst, desgleichen in Wasserpflanzen. Dagegen findet die Gametenbildung, wenigstens in dem einen Fall, den BUCK sah, im freilebenden Zustand statt, wozu ja auch *Allogromia* die Fähigkeit besitzt, wie wir sahen. BUCK beschreibt den Vorgang folgendermaßen: Nach dreiwöchiger Kultur nahmen die Tiere keine Nahrung mehr auf und wurden gelblich. Ein isoliertes solches kugeliges Tier besaß einen Kern und eine große Vakuole. „Am folgenden Vormittag war der Nukleus nicht mehr sichtbar, an dessen Stelle aber lag ein runder, scharf begrenzter Haufen von feinen Körnchen, womit jedoch auch die übrige Körpermasse erfüllt schien, wie bei *Amoeba terricola* (GREEFF). Der Kern mußte offenbar in eine Menge von Teilstücken zerfallen sein.“ „Gegen 12 Uhr mittags fand die Entleerung eines Teiles der Körnchen statt, welche außerhalb des Muttertieres eine lebhafteste Bewegung erkennen ließen.“ Innerhalb einer Stunde waren sämtliche Körnchen entleert und sie „schwammen längere Zeit an ihrer Geburtsstätte in tanzender, langsamer Bewegung umher. Geißelfäden vermochte ich wegen der Kleinheit der Objekte nicht zu erkennen“. BUCK ließ einen Teil der Sporen von einer Oxytriche und einer *Lepadella ovalis* fressen und erhielt angeblich aus diesen Sporen, welche die fremden Körper passiert hatten, in 10 Tagen junge

Monothalamien. Die nicht verschlungenen Sporen sammelten sich in Haufen kleiner runder Scheibchen, welche heranwuchsen und in 14—18 Tagen sich in kleine Amöben umwandelten. Nachdem sie ein Heliozoenstadium durchgemacht hatten, verschmolzen mehrere Tiere und schieden eine Schale aus. Es liegt demnach bei *Phonergates vorax* derselbe Prozeß vor wie bei *Allogromia*, nur daß Buck die Kopulation der Gameten nicht beobachtete. Da die Körnchen tanzende Bewegungen ausführten, besaßen sie sicherlich auch Geißeln.

Der zweite Rhizopode, dessen Entwicklungsgeschichte Buck untersuchte, *Pseudospora parasitica* (?), weist ebenso wie *Allogromia* und *Phonergates* auf Wechselbeziehungen zwischen Rhizopoden- und Flagellatenformen hin. Buck sah in der Schale von *Arcella vulgaris* rundliche Pseudosporen, welche die vielleicht vorher schon abgestorbenen Arcellen ausfraßen, dann einen Geißelfaden entwickelten, mittels dessen sie umberschwammen. Die Flagellaten encystierten sich. Nach wenigen Tagen kamen aus den Cysten kleine Amöben hervor, welche eine Zeitlang Chlorophyllkörper aufnahmen. Schließlich „begannen die Amöben sich zusammenzukugeln, die Vakuolen blieben aber bestehen, und die zahlreichen dunklen Körnchen ihres Protoplasmas waren in einer lebhaft tanzenden Bewegung, gleich einer Molekularbewegung, begriffen. Am 28. Oktober hatten sich nun alle Amöben zusammengekugelt und boten die nämliche Erscheinung der Molekularbewegung dar. Einige der Tiere entleerten einen Teil ihres körnigen Inhalts nach außen, schlossen sich dann wieder oder zerfielen alsdann total in eine Menge sich lebhaft bewegender Körnchen, welche biskuitförmig eingeschnürt, eine Länge von ungefähr $\frac{1}{500}$ mm hatten.“ „Am 30. Oktober konnte ich keine einzige Amöbe mehr erblicken, dagegen krochen viele Tausende äußerst kleiner, heller Amöben auf dem Objektträger umher. Dieselben gingen aber wegen Mangel an passender Nahrung zugrunde.“ Ich halte es nicht für unwahrscheinlich, daß die biskuitförmige Einschnürung der Körnchen mit einer Kopulation der Gameten gleichbedeutend ist. Der Flagellatenzustand tritt bei *Pseudospora* im Gegensatz zu *Allogromia* vor der Sporulation auf, und zur Ergänzung sei gesagt, daß nach CIENKOWSKI (65) bei *Pseudospora* Flagellaten- und Amöbenzustand beliebig einander ablösen können.

SCHAUDINN untersuchte die Gametenbildung bei einer der *Allogromia* sehr nahe verwandten Form, *Chlamydophrys stercorea*, nachdem er schon früher (94) bei *Hyalopus (Gromia) dujardinii* kopulierende Gameten mit einer langen Geißel nachgewiesen hatte. Er beschreibt den Vorgang folgendermaßen: „Alle Fremdkörper und auch der degene-

rierte Zellkern werden ausgestoßen, und im Hintergrund der Schale bleibt nur die Chromidialmasse mit wenig Plasma zurück und ballt sich zu einer Kugel zusammen. In dem ungeteilten Plasma differenzieren sich aus dem dichten Chromidium die Geschlechtskerne in geringer Zahl (meist wurden acht beobachtet), erst dann zerfällt die Plasmakugel innerhalb der Schale in so viele Teilstücke, als Kerne vorhanden sind. diese anfangs kugeligen Zellen nehmen kurz ovale Gestalt an und entwickeln an einem Pol zwei Geißeln, mit deren Hilfe sie aus der Schale schwärmen.“ Über die Entstehung der Gametenkerne sagt er in einer Fußnote: „Bei der Dichtigkeit der Chromidialmasse vermag ich über die Art der Bildung dieser Kerne nichts Sicheres auszusagen, im Leben ist die Masse so stark lichtbrechend, daß man keine deutlichen Differenzierungen erkennt: im gefärbten Präparat sieht man wohl mancherlei, doch wage ich vorläufig keine Deutung. Sicher ist nur, daß dann unter Aufhellung des Plasmas die Kerne plötzlich da sind, während vorher eine einheitliche Masse vorhanden war.“ Vermutlich dürfte die Kernbildung ebenso wie bei *Allogromia* verlaufen. Je zwei Gameten kopulieren und bilden eine Cyste, aus der nach Passieren durch einen tierischen Darm (also auch hier die Tendenz zu parasitischer Lebensweise) eine kleine Amöbe ausschlüpft, welche sich bald mit der *Chlamydomorphys*-Schale umhüllt. Das Flagellatenstadium von *Allogromia* wird hier also durch einen, ebenfalls zur Verbreitung der Art führenden Cystenzustand ersetzt. Bei *Centropyxis* sind nach SCHAUDINN die Gametenkerne ebenfalls Sekundärkerne, welche aus dem Chromidialnetz entstehen und ebenso bei *Polystomella*.

SCHAUDINN kommt auf Grund seiner Untersuchungen zu dem Schluß, daß die Chromidialmasse die Geschlechtskernsubstanz darstelle. Ich glaube, daß eine Verallgemeinerung dieses Satzes für die Thalamophoren nach dem Vorgange GOLDSCHMIDT's (04) nicht zugänglich ist. Denn 1., in jungen Kulturen von *Allogromia* sind nur Spuren von Chromidien zu finden und erst im Laufe einer längeren Zucht treten sie zahlreicher auf. Sie sind also inkonstante Gebilde, die Kerne dagegen konstante, ebenso wie bei den Infusorien der Mikronukleus während der vegetativen Periode eine ziemlich konstante Größe aufweist, während die Größe des Makronukleus im Laufe längerer Kultur ganz beträchtlich schwankt. 2. Die Chromidien entstehen aus dem Kern (Fig. 5), also kann dieser unmöglich rein vegetativ sein, wenn wirklich die Chromidien (die „Sporetien“ GOLDSCHMIDT's) das geschlechtliche Chromatin vorstellen. Der befruchtete Kern gibt erst im Laufe des vegetativen Lebens des Tieres

ganz allmählich Chromidien ab und zwar um so stärker, je länger die vegetative Periode dauert, also müßte doch sicherlich bis dahin der Kern beide Chromatinarten besitzen, und das bedeutet ebensoviel, als daß eine Trennung der beiden Chromatinarten mindestens morphologisch "unmöglich" ist. 3. Der Kern der *Allogromia* gibt vor der Bildung der Sekundärkerne Substanz an das Chromidialnetz ab (Fig. 9—12). Ist dieser Umstand auch kein Beweis für die geschlechtliche Funktion des Allogromienkerns, so ist es doch mindestens ebenso unberechtigt, den Kern von jeder geschlechtlichen Funktion auszuschließen.

Durch die Freundlichkeit Herrn Dr. DOFLEIN's wurde ich noch auf einen Fall aufmerksam gemacht, den M. ROBERTSON (05) bei *Pseudospora volvocis* beschreibt, bei dem schon CIENKOWSKI (65) ein Rhizopoden- und ein Flagellatenstadium nachwies. *Pseudospora volvocis* kann in freilebendem Zustand nach Belieben am Vorderende zwei gleichartige Geißeln ausbilden, von denen die eine jedoch beim Schwimmen nach hinten gerichtet ist. Sie hat wie *Allogromia* die Fähigkeit, sich im Flagellatenzustand zu teilen, angeblich durch Querteilung. Außerdem kommt noch ein heliozoenartiger Zustand vor. Fräulein ROBERTSON beobachtete außerdem eine Gametenbildung mit Kopulation der Gameten, doch ist die Beschreibung der Entstehung der Gameten so unklar und unvollkommen, daß ich darauf verzichten muß, näher auf die Arbeit einzugehen.

Bei allen den besprochenen Entwicklungskreisen konnte nur bei *Pseudospora parasitica* (CIENKOWSKI, BUCK) und *Pseudospora volvocis* (CIENKOWSKI, ROBERTSON) ein Flagellatenstadium beobachtet werden, wie ich es bei *Allogromia* nach der Kopulation der Gameten sah. Ein Irrtum meinerseits dürfte ausgeschlossen sein, da ich die Flagellaten zu wiederholten Malen beobachtete und dabei jedesmal auf alle anderen in dem betreffenden Wasser vorkommenden Protozoen achtete. Die Entwicklung der Flagellaten aus den Zygoten konnte leider nur einmal in dem besprochenen Fall direkt unter dem Mikroskop beobachtet werden, und zwar nur mit so schwachen Systemen, daß manche sehr interessanten Fragen unentschieden bleiben mußten, wie z. B. die Entstehung der Flagellen (oder allenfalls ihre Umwandlung aus den Gametengeißeln, sowie die Entstehung von diesen usw.).

Beziehungen zwischen Rhizopoden und Flagellaten konnten des öfteren festgestellt werden. Abgesehen von den Rhizomastiginen, die sich mittels Geißeln und außerdem auch noch durch Pseudopodien fortbewegen können, wurden rhizopodenartige Zustände beschrieben

bei Heteromastigoden (*Bodo*) und Isomastigoden (*Pseudospora*). Außerdem konnten in allen Ordnungen der Rhizopoden Gameten beobachtet werden, und zwar bei den Reticulosa zuerst von HAECKEL (70) bei *Protomyxa aurantiaca* und von R. HERTWIG (14) bei *Microgromia socialis*, die sich allerdings, ohne sich im Flagellatenzustand zu teilen, wieder in die gewöhnliche vegetative Form zurückverwandeln. *Pseudospora* und *Allogromia* dagegen besitzen außer dem Gametenstadium noch eine eigene Flagellatengeneration. *Pseudospora* wurde deshalb schon längst unter die Flagellaten und zwar zu den Isomastigoden eingereiht. Der Flagellatenzustand von *Allogromia* dagegen muß zu den Heteromastigoden gestellt werden.

Solange nicht mehr Resultate von Wechselbeziehungen zwischen Rhizopoden und Flagellaten vorliegen, halte ich es für verfrüht, auf Grund der wenigen bisherigen Ergebnisse systematische Spekulationen aufbauen zu wollen. Nur das eine möchte ich bemerken, daß sich das gegenseitige Verhältnis der beiden Ordnungen in der Art denken ließe, wie der Generationswechsel zwischen Polypen und Medusen, der nach der einen oder anderen Richtung in Anpassung an die Lebensweise der Tiere unterdrückt werden kann.

Im Anschluß an vorliegende Arbeit möchte ich noch eine Abbildung von der Gametenbildung eines anderen Rhizopoden (?) geben, von der ich in älteren Präparaten fragmentarische Bilder fand. Es handelt sich anscheinend wie bei *Allogromia* um eine sehr primitive Art des Parasitismus während des Prozesses der Gametenbildung innerhalb von *Euglena viridis*. Daß die Euglenen ebenso wie die Amöben nicht mehr ganz normal und kräftig waren, beweist das einem der betreffenden Präparate entnommene Chromidialtier Fig. 23. Eine mit zwei Gameten bildenden Parasiten behaftete *Euglena* zeigt Fig. 24. Keines der Bilder, die ich zu Gesicht bekam, war sehr deutlich, hauptsächlich wegen der ungünstigen Färbung mit Boraxkarmin, doch scheint es sich jedesmal, wie auch in der abgebildeten Figur, um eine noch gemeinschaftliche Plasmamasse mit vielen Kernen zu handeln. Eine Cystenhülle, wie sie an *Allogromien*, die in der Gametenbildung weit fortgeschritten sind, beobachtet wurde, konnte ich beim Englenenparasiten nie finden. Ich sah in den Präparaten außer den Euglenen und einer Unmenge winzig kleiner Amöben, die wohl die Gameten des Parasiten darstellen, nur noch *Chilodon*, wenige größere Amöben und einen kleinen Rhizopoden, welcher der *Vampyrella simplex* sehr ähnlich sieht (Fig. 25). Er ist einkernig, das Plasma ist sehr chromatisch, häufig finde ich in einiger Entfernung von der äußeren Plasmagrenze eine zweite, ihr parallel

verlaufende Linie, die ich für den Saum einer homogenen, ninfärbaren Gallertschicht ansehe. Besonders zahlreich sind die Tiere innerhalb von verlassenen Cystenschalen von *Didinium nasutum*. Ich bin keineswegs sicher, ob die vermintliche kleine *Vampyrella* und der Parasit der *Euglena* eins sind, doch vermute ich dies infolge der entsprechenden Größe beider, ferner infolge des großen Chromatinreichtums, der dem des Gameten bildenden Parasiten entspricht, und der starken Vertretung der vampyrellenartigen Tiere in meinen Präparaten. Wahrscheinlich den gleichen Parasiten in Gametenbildung innerhalb von *Euglena*, *Phacus* und *Trachelomonas* bildet STEIN (78) ab, der auch die Gameten ausschwärmen sah; sie besitzen nach STEIN eine Geißel. Die STEIN'sche Ansicht, daß die Schwärmer Fortpflanzungskörper der betreffenden Flagellaten sind, ist aus verschiedenen Gründen unhaltbar; einmal ist die Zahl der Gametenkapseln in einem Flagellaten sehr variabel, dann können die Flagellaten in den verschiedensten vegetativen Zuständen „Keimknegeln“ enthalten, ferner kann man hier denselben Einwand machen wie bei den Amöbensporen, daß aus einem Kern ganze Tiere entstehen müßten. Ich möchte mit dieser äußerst dürftigen Beobachtung nur einen Hinweis bringen, daß die Gametenbildung wohl eine sehr weite Verbreitung besitzen muß, und daß unsere Kenntnis von der geschlechtlichen Fortpflanzung der Rhizopoden vielleicht nur deshalb so wenig bekannt ist, weil die geschlechtliche Generation so klein und so abweichend von der vegetativen Form ist, daß sie bisher nicht beachtet wurde.

Literaturverzeichnis.

- AWERINZEFF: Süßwasser-Rhizopoden. Lief. 1 u. 2 (russisch). Arb. d. kais. Nat.-Ges. zu St. Petersburg Vol. 36 1906.
 BUCK, E.: Einige Rhizopodenstudien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XXX 1873.
 BÜTSCHLI, O.: Protozoa. BROOKS's Klassen und Ordnungen.
 CALKINS, G. N.: Evidences of a Sexual-cycle in the Life-history of *Amoeba proteus*. Arch. f. Protistenk. Bd. V 1905.
 CARTER, H. J.: Further Observations on the Development of Gonidia (?) from the Cell-contents of the Characeae. Ann. and Mag. Nat. Hist. Bd. XVI u. XVII 2. Ser. 1855/56.
 —: On *Amoeba princeps* and its Reproductive Cells, compared with *Aethalium*, *Pythium*, *Mucor*, and *Achlya*. Ann. and Mag. Nat. Hist. Bd. XII 3. Ser. 1863.
 CIENKOWSKI, L.: Beiträge zur Kenntnis der Monaden. Arch. f. mikr. Anat. Bd. I 1865.

- CIENKOWSKI, L.: Über einige Rhizopoden und verwandte Organismen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XII 1886.
- DOBLEIN, F.: Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger. Jena (G. Fischer) 1901.
- GOLDSCHMIDT, R.: Die Chromidien der Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. V 1904.
- GREFF, F.: Über einige in der Erde lebende Amöben und andere Rhizopoden. Arch. f. mikr. Anat. Bd. II 1866.
- HAECKEL, E.: Studien über Moneren und andere Protisten. Leipzig 1870.
- HERTWIG, R.: Über *Microgromia socialis*, eine Kolonie bildende Monothalamie des Süßwassers. Arch. f. mikr. Anat. Bd. X (Suppl.) 1874.
- —: Über Encystierung und Kernvermehrung bei *Arcella vulgaris*. Festschr. f. KUPFFER 1899.
- HERTWIG, R. u. LESSER: Über Rhizopoden und denselben nahestehende Organismen. Arch. mikr. Anat. Bd. X (Suppl.) 1874.
- RHUMBLER, L.: Systematische Zusammenstellung der recenten Reticulosa. Arch. f. Protistenk. Bd. III 1903.
- ROBERTSON, M.: *Pseudospora volvocis* (CIENKOWSKI). Quart. Journ. of Micr. Sc. Bd. II 1905.
- SCHAUDINN, F.: Über die systematische Stellung und Fortpflanzung von *Hyalopus* n. g. (*Gromia dujardini* [SCHLTZ.]). Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Freunde Berlin 1894.
- : Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Bd. XIX 1903.
- SCHULZE, F. E.: Rhizopodenstudien. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XI 1875.
- STEIN, F.: Der Organismus der Infusionstiere. III. Leipzig (Engelmann) 1878.
- WALLICH: Further observations on an undescribed indigenous *Amoeba* with Notices on remarkable forms of *Actinophrys* and *Diffugia*. Ann. and Mag. of Nat. Hist. Bd. XI 3. Ser. 1863.

Tafelerklärung.

Tafel I.

- Fig. 1. Besonders große *Allogromia* nach dem Leben.
- Fig. 2. Schräg nach unten gekehrte *Allogromia* mit Pseudopodien, o = Schalenöffnung.
- Fig. 3 u. 4. *Allogromien* nach Präparaten.
- Fig. 5. Chromidienbildung.
- Fig. 6. Teilungsstadium.
- Fig. 7. Kerndegeneration.
- Fig. 8. *Vampyrella*, mit *Allogromia* in Gametenbildung infiziert; nach dem Leben.
- Fig. 9. *Amoeba proteus* mit sechs frisch eingedrungenen *Allogromien*.
- Fig. 10 u. 11. Kernauflösung von *Allogromia*.
- Fig. 12. Bildung der Sekundärkerne.
- Fig. 13. Teilung derselben.
- Fig. 14. Die Sekundärkerne haben Membranen erhalten; alter Kernrest noch vorhanden.
- Fig. 15. Körperteilung.

- Fig. 16. Stadium kurz vor der Reifung der Gameten.
 Fig. 17. Reife Gameten in ihrer gemeinsamen Cystenhülle.
 Fig. 18. Stark infizierte *Amoeba proteus* mit reifen Gametenhäuten = *r* und unreifen Stadien = *u*; *n* = Kern der Amöbe, *f* = Futterkörper.
 Fig. 19. Reife Gameten.
 Fig. 20. Kopulation derselben.
 Fig. 21. Flagellatenstadium nach der Kopulation der Gameten.
 Fig. 22. *Amoeba proteus*, erfüllt mit reifen Gameten von *Allogromia*.
 Fig. 23. *Euglena viridis*, mit zahlreichen Chromidien.
 Fig. 24. *Euglena viridis*, mit zwei Gameten bildenden Parasiten infiziert.
 Fig. 25. Vermutliche vegetative Form der Parasiten von *Euglena* (*Vampyrella simplex*?).

Sämtliche Figuren außer Fig. 21 sind mit dem ANSE'schen Zeichnungsapparat gezeichnet. Als Vergrößerungen wurden angewandt bei Fig. 1, 2, 8, 9, 24, 25 LERTZ Comp. Oc. 4, Imm. $\frac{1}{12}$, bei Fig. 3—7, 10—20, 26 Comp. Oc. 8, Imm. $\frac{1}{12}$, bei Fig. 18, 23 Comp. Oc. 2, Imm. $\frac{1}{12}$, bei Fig. 21 Oc. 2, Obj. 5. Tubuslänge 170 mm.

Der Verfasser vorstehender Arbeit, HANS PRANDTL, hat die Freude nicht mehr erlebt, dieselbe veröffentlicht zu sehen. Am 29. November des verflossenen Jahres wurde er im noch nicht beendeten 25. Lebensjahre seinem Wirkungskreis durch einen jähen Tod entrissen. Als langjähriger Lehrer und Freund des Verstorbenen kann ich die Arbeit nicht der Öffentlichkeit übergeben, ohne ihm schmerzbewegt einige Worte der Erinnerung zu widmen.

HANS PRANDTL, Kind einer Münchner Familie, aber in Hamburg am 19. Dezember 1881 geboren, hat seine gesamte Studienzeit an der Münchener Universität verbracht. Da er von Anfang an durch sein lebhaftes Interesse und seine große Begabung für Biologie meine Aufmerksamkeit erregte, gab ich ihm Gelegenheit, zunächst als Hilfsarbeiter an der Staatssammlung, später als mein Privatassistent sich eingehender mit Zoologie zu befassen. Er zeichnete sich bei dieser Tätigkeit durch unermüdlichen Fleiß, durch die rasche und energische mit praktischem Sinn gepaarte Art seines Arbeitens, große Beobachtungsgabe und Fähigkeit, sich in wissenschaftliche Probleme zu vertiefen, aus. Nachdem er im Januar 1906 sein Dokorexamen mit der ersten Note bestanden hatte, ermöglichte ein Stipendium der Münchner Akademie der Wissenschaften ihm im Herbst einen Aufenthalt an der Zoologischen Station von Neapel. Hier erkrankte er an einem schweren Ruhranfall, welcher ihn dahin-

raffte, da er, ein eifriger Turner und Freund des Sports, durch körperliche Anstrengungen im letzten Jahre seinem Herzen zu viel zugemutet hatte. Ein schwerer Verlust für die Zoologie, auf deren Gebiet er Hervorragendes zu leisten berufen war, für seine Freunde und Kollegen, die ihn als einen zuverlässigen Charakter und allezeit hilfsbereiten Mitstrebenen schätzten, vor allem aber für mich, seinen Lehrer, der in ihm einen treuen, durch jahrelange gemeinsame Untersuchungen eng verbundenen Mitarbeiter verloren hat.

München, im Januar 1907.

Richard Hertwig.

Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

Die Sexualität bei den Protisten.

Von

Dr. S. Prowazek.

Die Untersuchungen der Entwicklungskreise der Protisten in den letzten Jahren haben unsere bis vor kurzem noch recht mangelhaften Kenntnisse über die Sexualerscheinungen dieser niedrig organisierten Lebewesen wesentlich erweitert und führten zu dem beachtenswerten Ergebnis, daß in allen Gruppen des Protistenreiches ein Sexualakt vorkommt und daß demnach die Sexualität ein Elementarvorgang der organischen Substanz ist. In diesem Sinne sei hier nur an die Sexualerscheinungen der Bakterien (SCHAU-
BUNN 1902a) der Saccaromyceten, der Myxomyceten (sofern *Plasmodiophora* zu ihnen gerechnet wird), Flagellaten, Coccidien mit Einschluß der ihnen nächstverwandten Hämosporidien, Gregarinen und Ciliaten erinnert. Bei den Myxosporidien scheint erst in der Spore (Pebrine) oder vor der eigentlichen Sporenbildung eine Autogamie mit Ausbildung von 1—2 Reduktionskörpern stattzufinden, während die sog. Cnidoblastkerne eine Art von Somakernen der geschlechtlichen Kerngeneration darstellen. Der Entwicklungszyklus der Sarcosporidien ist noch zu wenig studiert worden, um in diesem Sinne hier bereits einen Rückschluß zu gestatten, — immerhin scheint hier eine später noch zu besprechende Zweikernigkeit der Protisten vorzukommen, die mit beweglichen Serumformen in Zusammenhang zu bringen wäre.

Man hat bis jetzt im allgemeinen die Lösung des Sexualitätsproblems in dem Phänomen der Befruchtung allein gesucht, wobei die geschlechtliche Differenzierung und das Verhalten der vollkommen entwickelten Sexualzellen an sich naturgemäß mehr in

den Hintergrund der Betrachtungen gedrängt, wenn nicht völlig außer acht gelassen worden ist. Für eine derartige einseitige Betrachtungsweise sind aber gerade die Protisten nicht geeignet, — hier drängt sich mit zwingender Notwendigkeit die Betrachtung der Geschlechtsformen selbst von den ersten Anfängen ihrer Ausbildung auf.

Eine geschlechtliche Differenzierung, die sich in einer deutlich wahrnehmbaren Verschiedenheit der zum Sexualakt schreitenden Zellen äußert, wurde zuerst genauer bei den ursprünglichen Flagellaten und den mit ihnen aufs engste verwandten Hämosporidien und Coccidien sowie bei den Gregarinen nachgewiesen.

PRANDTL (1906) konnte außerdem bei den Ciliaten (*Didinium*) auch einen gewissen Unterschied im Verhalten der zu einem Befruchtungskern zusammentretenden Wander- und stationären Kerne nachweisen; die Deutung dieser Unterschiede im Sinne einer geschlechtlichen Differenzierung ist wohl sehr naheliegend.

Die Vorgänge der Geschlechtsdifferenzierung kann man am besten an Hand der von SCHAUDINN gegebenen ausführlichen Schilderung dieser Prozesse bei *Haemoproteus noctuae* (SCHAUDINN 1904) verfolgen. Wir wollen der Übersichtlichkeit wegen mit der Schilderung des sog. Ookineten und zwar vor allem dessen Kernes, der für diese Vorgänge besonders in Betracht kommt, an dieser Stelle beginnen.

Rein morphologisch betrachtet, besteht dieser Kern, von dem alle Differenzierungen ausgehen, aus zwei Komponenten und zwar einer Art von Hohlkugel, die von einer in gewissen Fällen alveolarstrukturierten achromatischen Substanz, der das färberisch nachweisbare Chromatin eingelagert ist, gebildet wird, und ferner aus einem dichteren, lichtbrechenderen, rotviolettten Gebilde, das wir zunächst mit dem indifferenten Namen „Innenkörper“ belegen wollen. Man kann zunächst zwei Arten von Ookineten, aus denen aber in allen Fällen Trypanosomenformen hervorgehen, unterscheiden und zwar Ookineten mit einem großen chromatinreichen Kern und hellen Protoplasma, die den Ausgangspunkt für männliche Formen bilden, und große Ookineten mit kleinem Kern und reservestoffreichem Protoplasma, aus denen sich weibliche Individuen, wie der spätere Befruchtungsprozeß beweist, herausdifferenzieren. Im ersteren Falle gehen durch fortgesetzte, ungleichpolige Teilung aus dem Zentralkern acht gleichwertige Kerne hervor, die sich weiterhin wiederum heteropol teilen, doch so, daß an Stelle der ursprünglichen acht Kerne acht Doppelkerne (also 16 Kerne)

auftreten, von denen je einer in der Folgezeit den Blepharoplast darstellt. Bei den männlichen Ookineten degeneriert der ursprüngliche centrale Kern, dessen Substanz zum großen Teil auf die oben beschriebene Kernhohlkugel zurückzuführen ist.

Bei der Aufdifferenzierung der weiblichen Formen aus den oben geschilderten weiblichen Ookineten ist gerade das Umgekehrte von den hier beschriebenen Vorgängen der Fall; hier rücken nämlich die durch den ungleichpoligen Kernteilungsvorgang entstandenen acht Doppelkerne in den hinteren Abschnitt des reservestoffreichen Zellkörpers und gehen hier insgesamt zugrunde, während der centrale Kern, bei dem die Kernhohlkugel im Verhältnis zu dem restlichen Innenkörper stärker ausgebildet war, für die Entwicklung der weiblichen definitiven Trypanosomenform maßgebend ist. Bezüglich der weiteren Details muß auf die wichtige Arbeit von SCHAUDINN selbst hingewiesen werden.

Abgesehen von den bereits angedeuteten Protoplasma- verschiedenheiten kann man, wie erwähnt worden ist, in den Ookinetenkernen eine doppelte morphologische Differenzierung beobachten und zwar einen dichter gebauten, violettrot färbbaren, lichtbrechenderen Innenkörper und eine bei weitem weniger dicht strukturierte, ihn hohlkugelartig umgebende Hülle von achromatischer und chromatischer Substanz.

Je nach dem Entwicklungsstadium und dem Grade der geschlechtlichen Differenzierung wechselt das gegenseitige Massenverhältnis der beiden Bildungen. Was für eine Bedeutung besitzen nun diese beiden Differenzierungen?

Während der Zellruhe kann man vorläufig kaum irgend etwas positives über die Funktion des Innenkörpers aussagen, während der Teilung dagegen zerstemmt dieser Innenkörper, in eine Art von Centralspindel sich umbildend, den Kern, wie dieses auch für das Karyosom der Coccidien (*Eimeria schubergi*) von SCHAUDINN (1900), wo sogar eine Centralspindelschnürplatte oder ein Zwischenkörper beobachtet wurde, festgestellt worden ist. Dasselbe gilt auch für den Innenkörper verschiedener anderer Flagellaten wie *Euglena* (KERSTEN 1895), *Eutreptia* (STEIER 1903) und *Entosiphon* (PROWAZEK 1903).

Aus dem Innenkörper der Trypanosomen geht ferner durch eine ungleichpolige Teilung der mit der Lokomotion in Zusammenhang stehende Kern, der Blepharoplast hervor, aus dem sich durch eine weitere, wiederum heteropole Teilung der Randsaum der undulierenden Membran ausbildet. Morphologisch aus-

gedrückt, entspricht also dieser Randsaum einer Centralspindel, die sonst den ovalen oder runden Kern zerteilt, zerstemmt, in dem hier geschilderten Fall dagegen erst dem flüssigen, der Tropfenform zustrebenden Protoplasten die Trypanosomenform verleiht und die Bewegung etwa wie die Rückenflosse eines Aales reguliert, während die eigentlichen Körper„kontraktionen“ des Protisten auf die sog. acht Myophane zurückzuführen sind. Diese sind morphologisch mit den Mantelfasern der Centralspindel zu vergleichen und sind auch insofern als Kernderivate aufzufassen, als sie genetisch aus dem Blepharoplast entstehen. Vielleicht ist die sie verbindende „Haut“, der Periplast, überhaupt ein Kernderivat, denn sie färbt sich mit GIEMSA's Eosinazur rot wie der Kern, widersteht der Pepsin- und Trypsinverdauung, wird durch Saponin und Sapotoxin nicht aufgelöst, dagegen durch Galle und taurochalsaueres Natrium bis auf einen unbedeutenden Schatten in Lösung übergeführt. Sie verhält sich ungefähr wie die Membran der roten Blutkörperchen, die nach den neueren Untersuchungen von ALBRECHT, KOEPPE, WEIDENREICH, PASCUCCI (HOFMEISTER'S Beitr. z. chem. Physiol. n. Pathol., Bd. 6, 1905, H. 11/15), eine halbdurchlässige Membran mit Lipoid- und Cholesterineinlagerungen ist und nach ALBRECHT genetisch mit Kernsubstanzen in Zusammenhang zu bringen wäre.

In gleichsam komprimierter Weise finden wir das Prinzip des Trypanosomenaufbaues in dem morphologischen Bau des Spirochätenzelleibes verwirklicht. Hier erfuh der Doppelkern aber keine sichtbare Differenzierung in zwei Kerne — in einen Centrkern und einen Blepharoplast — sondern verblieb auf seinem primitiven, gleichsam ineinandergeschachtelten Stadium und bildete sich in den sog. Kernstab nm, dessen Struktur auf den Stadien vor der Zellteilung der *Spirochaeta balbianii*, die PERRIN genau untersucht und in diesem Archiv (1906) beschrieben hatte, gut beobachtet werden kann. Im Prinzip ist dieser Kernstab ein mitunter spiralig gedrehter, enorm verlängerter Innenkörper mit einer chromatischen Umhüllung, die zum größten Teil dem Centrkern oder vegetativen Kern der Trypanosomen entspricht.

Das formgebende Prinzip des Spirochätenzelleibes ist in diesem Kernstab und der undulierenden Membran, die bei den größeren Formen mit ihm im Zusammenhang steht und die ich bei einer ganzen Reihe von Spirochäten jetzt sowohl während des Lebens als auch im Präparat beobachten konnte, gegeben. Nach demselben, physiologisch vollkommen begründeten Bauplan ist über-

haupt jede Geißel, jedes Flagellum gebaut. Neueren mehrfach nachgeprüften Untersuchungen zufolge besteht diese aus einem elastischen Achsenfaden, der demgemäß dem Randsaum (Centralspindel, Blepharoplastderivat) homolog ist, und aus einer ihn umgebenden kontraktile spiralförmigen Hülle. Für die Spermien der Weinbergschnecke habe ich den Nachweis erbracht, daß ihr Achsenfaden auf eine Centrodemesose der Centrialkörper zurückzuführen ist, eine Angabe, die allerdings von MEWES bestritten wurde und noch der Nachuntersuchung harret.

Das Ergebnis der hier niedergelegten, zum Teil nur theoretisch erschlossenen Bemerkungen über den Innenkörper läßt sich in dem Sinne zusammenfassen, daß nach anderweitigen Untersuchungen das Protoplasma gleichsam ein zweiphasisches kolloidales System darstellt, bei dem die Sol- und Gelphase wechseln kann, in der geschilderten Innenkörpermodifikation dagegen in der letztgenannten Phase einerseits einen festeren, gleichsam zähen, formbestimmenden, elastischen und andererseits einen veränderlichen Kontraktionen zugänglichen Zustand annimmt.

Bei den Trypanosomen ist man in der Lage, gelegentlich der sog. Agglomeration dieser Blutparasiten, d. h. der rosettenförmigen Zusammenklebung zahlreicher Individuen sowohl unter Einfluß eines Immunserrums als unter Einwirkung von verschiedenen chemischen Stoffen (Brillantkresylblau) noch eine weitere vermutliche Funktion dieses Innenkörpers bzw. seines Derivates des Blepharoplasts festzustellen. Die Trypanosomen kleben nämlich, soweit meine Beobachtungen reichen, immer mit den Enden zu den charakteristischen Rosetten zusammen, wo der sog. Blepharoplast liegt. Dieser produziert also durch eine physiologische Veränderung eine auch mikroskopisch nachweisbare schleimartige Substanz, die zu jenen Verklebungserscheinungen den Anlaß gibt. Es wäre von Interesse, dieses Phänomen unter verschiedenen Salzkonzentrationen und Temperaturen zu verfolgen.

Auf manchen Stadien der weiblichen Naganatrypanosomen sowie der Kulturformen der Euletrypanosomen findet man im Centrum des rotviolettten Innenkörpers eine blau sich färbende Substanz, die ich mit dem Plasmid zu identifizieren geneigt bin. Sie kommt auch in den Nukleolen der Metazoenzellen vor. In pathologisch veränderten Zellen, wie beim *Molluscum contagiosum*, zuweilen beim Karzinom, bei der Pockenkrankheit der Karpfen, der Kohlhernie usw. erfahren diese Nukleolen eine bedeutende Vergrößerung, manchmal sind sie wie bei der Vaccine flaschen-

förmig gestaltet und zeigen Beziehungen zur Kernmembran, Bilder, die mit einem Substanzaustritt in Zusammenhang zu bringen wären (ALBRECHT, LEKJANOW, Pathologie der Zelle). Ferner ist der Nachweis erbracht worden, daß die Gnarnierischen Körperchen bei der Vaccine nicht die lange Zeit gesuchten Erreger dieser Krankheit aus dem Protistenreich sind, da man selbst nach ihrer Zerstörung mit demselben Material mit Erfolg Infektionsversuche vornehmen kann, daß sie aber aus einer chromatischen und einer plastinartigen Komponente bestehen und genetisch zu dem Kern in einer sehr innigen Beziehung stehen.

Die genannten Körperchen sind also als Abwehrprodukte der Zelle zu betrachten und sind zum Teil ihren Reaktionen zufolge mit dem Plastin identisch. Da überdies alle diese Kernsubstanzen ziemlich beständig sind, scheint die Annahme, daß sie Träger der Innenkörper sind, nicht so unbegründet zu sein. Nach den Untersuchungen von PASCHEN (1904) erscheinen sie bei der Revaccination in größerer Zahl und rascher, eine Erscheinung, die mit der Auffassung, daß sie Reaktionsprodukte der Zelle sind, gleichfalls im Einklang steht.

Im Sinne der Morphe ist demnach die Substanz des Innenkörpers Träger des formengebenden Prinzips (Centralspindel, Randsaum der undulierenden Membran, Achsenstab der *Herpetomonas*, *Trichomonas* usw., Spermienachsenfaden), ferner der lokomotorischen Funktion (Myoplane, Mantelstrahlen), im Sinne der defensiven Zelltätigkeit vielleicht Produzent der agglomerierenden Substanzen bei den Trypanosomen sowie der Innenkörper. Die hier angeführten Termini entbehren nicht eines metaphysischen Beigeschmackes und sind, da wir die physiologischen Funktionen des kolloidalen Protoplasmas noch zu wenig kennen, cum grano salis zu handhaben; im letzten Grunde bezeichnen sie nur die Funktionen besonderer Phasenzustände der organischen Kolloide.

Lenken wir nun unsere Aufmerksamkeit der den Innenkörper umgebenden Kernhohlkugel, die die eigentliche Masse des Kernchromatins enthält, zu. Der Chemismus des Chromatins ändert sich im Laufe des Zellebens in verschiedener Weise und es gewinnt den Anschein, daß das Chromatin ein Sammelausdruck für amphotere Kolloide ist, die mit einer Reihe von Farbstoffen salzartige Kombinationen eingehen können, die sich aber eben infolge ihrer amphoteren Natur färberisch ändern (Metachromasie). So färben sich die Kerne der jungen Blutzellen beim Huhn nicht mit dem von WITT und ENRICH eingeführten Neutralrot, während mit der vom Kern

vermutlich ausgehenden (ALBRECHT) vorschreitenden Hämoglobinisierung der Rotzellen sowohl um deren Kerne herum Granulationen in der Form eines Chromidialnetzes als auch deren Kerne selbst sich kirschrot färben. Etwas Ähnliches gilt von dem Kern verschiedener Ciliaten (*Stylonychia*, *Paramecium*).

Nach zahllosen physiologischen Versuchen und Beobachtungen spielt das Chromatin im Haushalte der Zellen eine wichtige Rolle.

Es ist bewiesen, daß kernlose Zellen auf die Dauer die angenommene Nahrung nicht mehr verdauen können (kernlose Amöben, *Stentor*, Vorticellen und Paramäcien, deren Kern durch eine Bakterieninfektion zerstört worden ist).

Das Chromatin spielt ferner im osmotischen Haushalt der Zellen eine Rolle; kernlose oder künstlich entkernte Zellen sind flüssigkeitsreich und von zahlreichen Flüssigkeitsvakuolen durchsetzt (kernlose Amöben, kernlose *Stentor*, bei der Excystierung entkernte *Stylonychia*, kernlose Algenzellen usw.). Das Chromatin steht schließlich zu der Produktion von Reservestoffen in Beziehung; so wies ZUELZER (1904) auf den Zusammenhang der Chromidien bei *Diffugia* zu der Produktion von Glykogengranula hin und BLUNTSCHLI (1904) machte auf die Dotterbildung von seite der Chromidien im Ei der *Ciona* aufmerksam. Das Chromatin der den Innenkörper umgebenden Zone reguliert also die Osmose, beteiligt sich an der Produktion von Reservestoffen und steht durch gewisse Fermentationen zu der Verdauung und Assimilation in naher Beziehung.

Nach dieser für die folgenden Betrachtungen notwendigen Abschweifung über die beiden Komponenten des Flagellatenkernes, nämlich des Innenkörpers und der ihn umgebenden Substanzen, müssen wir nun zu unserer Ausgangsbetrachtung zurückkehren und uns die Frage vorlegen, ob noch bei anderen Protisten analoge Sexualdifferenzen, wie sie bei *Haemoproteus* (*Halteridium*, *Trypanosoma noctuae*) geschildert worden sind, vorkommen.

Bei *Herpetomonas muscae domesticae* (PROWAZEK 1904), die im Darm der Stubenfliege schmarotzt, können wir sogar die Beobachtung anstellen, daß auf gewissen Ruhestadien in ein und derselben Zelle das Protoplasma in den beiden oben berührten Modifikationen auftritt und zwar einerseits in einer reservestoffreichen, dichten Form mit runden Kernen, wie sie für die ♀ Ookineten des *Haemoproteus* festgestellt worden sind, andererseits in einem mit lichtblauem Farbenton sich tingierenden Zustand mit zahlreichen Blepharoplasten (♂).

Die Zelle ist geradezu zwitterig. Für die Cellularphysiologie ist die genaue Nachuntersuchung dieser Stadien sehr wichtig.

Geschlechtlich differenzierte Formen, von der Art, daß neben beständigeren reservestoffreichen, breiteren Formen mit einem runden großen oder rundlichen Kern (♀) auch banfälliger schmale, beweglichere Individuen mit einem dichten, dunkel sich färbenden Kern, der oft spiralig oder bandförmig gestaltet ist (♂) vorkommen, wurden bereits bei einer ganzen Reihe von Protisten nachgewiesen.

Bei den Trypanoplasmen der Fische wurden diese Geschlechtsunterschiede von KEYSSSELITZ (1905) nachgewiesen, bei *Trypanosoma lewisi* kommen Männchen mit schmalem Protoplasmazeileib und einem dunkelfarbenen spiraligen Kern vor (PROWAZEK 1905b), bei *Trypanosoma brucei* wurden Formen von erheblicher Breite und rundem oder rundlichem Kern als weibliche Individuen von PLIMMER, BRADFORD, SCHILLING u. a. beschrieben. KOCH (1905) beobachtete in der Tsetsefliege schmalere, männliche Formen mit einem bandförmigen Kern, ähnliche Formenzustände treten bei *Tryp. gambiense* sowie bei *Tryp. equiperdum* auf, wo sie KEYSSSELITZ beobachtet hatte (nnd.). Bei der im Kristallstiel der Auster schmarotzenden *Spirochaeta balbianii* hat PERRIN (1906) für den männlichen Gameten einen langgestreckten Protoplasmakörper mit einem länglichen mit 32 rundlichen Chromatinkörnern ausgestatteten Kern beschrieben.

Bekannt ist der Bau der Mikro- und Makrogameten bei dem Malaria plasmodium und den Coccidien; die Makrogameten des Plasmodiums sind reichlich mit Reservestoffen beladen und durch eine größere Widerstandsfähigkeit ausgezeichnet, von ihnen gehen auch die Rezidive aus, die befruchtungsfähigen Männchen haben ein dichtes Kernband, schmalen Protoplasmaleib und sind trypanosomenähnlich gestaltet. Die Mikrogameten der Coccidien, z. B. der *Eimeria schubergi*, besitzen zwei Geißeln, und bestehen zum größten Teil aus Kernsubstanz und sind außerordentlich beweglich.

Bei der *Cyclospora caryolytica* ist sogar ein Blepharoplast von SCHAUDINN (1902b) nachgewiesen worden. Die männliche Protistenzelle ist demnach durch eine größere Beweglichkeit, ein flüssigkeitsreiches, hinfalliges Protoplasma und einen dichten Kern, in dem die Innenkörpermodifikation die Oberhand gewinnt, ausgezeichnet; wie oben ermittelt wurde, ist an diese Zustandsmodifikation des organischen Kolloids im Sinne der Morphologie das formenbestimmende Prinzip (Centralspindel, Blepharoplast, die Stützfaserstrukturen) und die Teilungsfunktion geknüpft.

Bei der weiblichen Protistenzelle ist der Kern rundlich, die

Innenkörpermodifikation tritt mehr in den Hintergrund, dagegen ist das Protoplasma stärker ausgebildet und sehr reservestoffreich. Das Plasma tritt in einer Modifikation auf, die für eine Anreicherung von später der Assimilation zugänglich gemachten Stoffen sehr günstig ist. Bei der weiblichen Zelle verkümmern die Attribute der männlichen Zelle, ohne ihr aber gänzlich abzugehen, wie die im Protistenreich häufig vorkommende Erscheinung der Parthenogenese mit ihren späteren Aufdifferenzierungen zur Genüge beweist.

Bereits die Naturphilosophen haben auf den zyklischen Verlauf im organischen Geschehen hingewiesen.

Die moderne Zellbiologie bemühte sich den Nachweis zu erbringen, daß die Differenzierungen in der Zelle selbst eine zyklische Natur besitzen und aus den Untersuchungen von BOVERI (1901), VEYDOVSKY und MRAZEK (1903) geht hervor, daß die Centrosomen, die Teilungsorganoide der Zelle zyklische Gebilde sind. Dasselbe gilt bezüglich des Blepharoplasts (*Herpetomonas muscae domesticae*) und des Innenkörpers des vegetativen Kernes der Trypanosomen, der periodisch durch die Erscheinung der Autosynthese sich umreguliert, ja zuweilen ganz verschwindet. Eine eigenartige Periodizität kommt auch dem „Protoplasmakernverhältnis“ zu, das zuerst R. HERTWIG (1903a u. b) in einer Reihe von grundlegenden experimentell wohl fundierten Schriften festgestellt und in seiner ganzen theoretischen Tragweite erkannt hat. Es ist nun klar, daß das zyklische und periodische Geschehen dieser Zellgebilde, von denen die Änderungen in dem zweiphasischen kolloidalen Protoplasmasystem ausgehen, im Laufe des Lebens in eine gewisse Disharmonie geraten muß, die durch die geschlechtliche Befruchtung eine notwendige Korrektur erfährt.

In dem Dimorphismus der Geschlechter sind gleichsam die Prinzipien dieser zyklischen Gebilde — einerseits die teilungs- und formengebende Funktion (♂), andererseits die Osmoseregulation und Reservestoffbildung sowie Präparation der Assimilate (♀) — vollkommen kraß und rein durchgearbeitet, und sie besorgen so bei der Befruchtung durch ihr Zusammentreffen die notwendige Korrektur der im Individualleben sich einstellenden einseitigen Disharmonien.

Wir müssen uns vorläufig mit diesen allgemeinen, ja leider viel zu oft noch metaphysisch etwas verschleierte Ausdrücken begnügen, da die Kolloidchemie und -physik bzw. Physiologie des Protoplasmas noch zu wenig durchforscht ist.

Immerhin geht aus diesen Erwägungen bereits hervor, daß der geschlechtliche Dimorphismus eine Elementarerscheinung des

Organischen ist, worauf bereits SCHAUDINN (1905) in seinem gedankenreichen Referat über die Sexualität der Protozoen auf der Zoologenversammlung in Breslau 1905 die Aufmerksamkeit der Biologen gelenkt hatte — es sei an dieser Stelle an die wichtige Schrift, die, als ein Programm gedacht, leider zu einem Epilog geworden ist, besonders hingewiesen — sie enthält eine Fülle von anregenden Gedanken bezüglich des Themas, das uns hier beschäftigt hat.

Wie verhält sich aber die hier angedeutete Funktion des geschlechtlichen Dimorphismus bei Protistenzellen, bei denen zur Zeit der Befruchtung nicht zwei verschiedene Zellen zusammentreten, sondern durch eine Art von Autogamie innerhalb ein und derselben Zelle auf dem Wege einer extremen Inzucht gleichsam die geschlechtliche Korrektur besorgt wird? In dem hier angedeuteten Fall (Heliozoen, Amöben, einige parasitische Flagellaten, Bakterien usw.) teilen sich die Kerne desselben Individuums, bilden Reduktionskörper aus und verschmelzen sodann mit ihrem Partner. Diesbezüglich ist zu bemerken, daß die Kerne dieser autogam sich befruchtenden Protisten bereits im Gegensatz zu den sog. Soma- oder vegetativen Kernen und ihren Chromidien speziell als Geschlechtskerne differenziert sind und daß bereits bei einer Form (*Plasmodiophora*, PROWAZEK 1905a) sogar geschlechtliche Unterschiede im Aufbau der Kerne dieser gleichsam zwitterigen Zellen konstatiert werden konnten; in diesem Sinne müssen aber noch weitere Untersuchungen angestellt werden.

Neben der Aufgabe des geschlechtlichen Dimorphismus, die Disharmonie der zyklischen Generatoren, welche sich im Laufe des Individuallebens eingeschlichen haben und von denen die notwendigen Änderungen der Zustandsphasen der organischen Kolloide ausgehen, zu korrigieren, wird bei der Befruchtung durch die Amphimixis auch eine Vermischung der zusammentretenden Substanzen bewirkt, durch die dann die spätere Differenzierung individuell beeinflusst wird; es scheint aber, daß diese Seite des Problems durch die Chromosomenmystik, die mit allen metaphysischen Fehlern der alten, sonst überwundenen mechanistischen Weltanschauung belastet ist, vorläufig wenig gefördert, zum mindesten durchaus nicht einer Erklärung zugeführt wurde. Das Problem wird nur verschoben, nicht beseitigt.

Colombo,¹⁾ 4. August 1906.

¹⁾ Dieser Aufsatz wurde während einer Reise verfaßt und es konnten daher nur, soweit es tunlich war, die genauen Literaturcitate angeführt werden.

Literaturverzeichnis.

- BLUNTSCHLI (1904): Über die Entwicklung des Ovarialeies von *Cynthia microcosmus*. in: Morph. Jahrb. 1904.
- BOVERI, TH. (1901): Zellenstudien. Heft 4. Jena 1901.
- HERTWIG, R. (1903a): Über Korrelation von Zell- und Kerngröße und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zellen. in: Biol. Centralbl. V. 23.
- (1903b): Über das Wechselverhältnis von Kern und Protoplasma. München.
- KEUTEN (1895): Die Kernteilung von *Englena viridis*. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. V. 60.
- KEYSSSELITZ (1906): Generations- und Wirtswechsel von *Trypanoplasma borreli*. in: Arch. f. Protistenk. V. 7.
- KOCH, R. (1905): Über die Unterscheidung der Trypanosomenarten. in: Sitz.-Ber. Akad. Wiss. Berlin. V. 46.
- PASCHEN (1904): Zur Frage der Vaccinekörperchen bei der Revaccination. Biol. Abt. d. ärztl. Vereins Hamburg, 5. März 1904. Münch. med. Wochenschrift 1904.
- PERRIN (1906): Rescharees upon the Life history of *Trypanosoma halbianii*. in: Arch. f. Protistenk. V. 7.
- PRANDTL (1906): Die Konjugation von *Didinium nasutum*. in: Arch. f. Protistenk. V. 7.
- PROWAZEK, S. VON (1903): Die Kernteilung des Entosiphon. in: Arch. f. Protistenk. V. 2 1903.
- (1904): Die Entwicklung von *Herpetomonas*. in: Arb. d. kaiserl. Gesundheitsamtes. V. 20.
- (1905a): Über den Erreger der Koblhernie *Plasmodiophora brassicae*. *ibid.* V. 22.
- (1905b): Studien über Säugetiertrypanosomen. *ibid.* V. 22.
- SCHAUDINN, FR. (1900): Untersuchungen über den Generationswechsel der Coccidien. in: Zool. Jahrb. V. 13.
- (1902a): Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. I. in: Arch. f. Protistenk. V. 1.
- (1902b): Studien über krankheitserregende Protozoen. I. *Cyclospora caryolytica*. in: Arb. d. Kais. Gesundheitsamtes. V. 18.
- (1904): Generations- und Wirtswechsel bei *Trypanosoma* und *Spirochaete*. *ibid.* V. 20.
- (1905): Neuere Forschungen über die Befruchtung der Protozoen. in: Verb. Deutsch. Zool. Ges. 1905.
- STEUR (1903): Über die Euglenoide (*Eutreptia*) aus dem Canale grande von Triest. in: Arch. f. Protistenk. V. 3.
- VEYDOVSKY, F. und MRAZEK, A. (1903): Umbildung des Cytoplasma während der Befruchtung und Zellteilung. in: Arch. f. mikr. Anat. V. 62.
- ZURLEZER, M.: (1904): Beiträge zur Kenntnis von *Diffugia nrecolata*. in: Arch. f. Protistenk. V. 4 1904.

*Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

Ein Beitrag zur Phylogenie der Thalamophoren.

Von

Kurt Hücke.

(Hierzu 2 Textfiguren.)

„Die sicherste Führerin zur Erkenntnis der natürlichen Verwandtschaftsverhältnisse der Thalamophoren ist die Paläontologie.“

SCHAUDINN (in Zool. Centralbl. II S. 209).

Jedem, der sich eingehender mit dem Studium der Thalamophoren beschäftigt hat, und der die einschlägige Literatur kritisch betrachtet, muß es auffallen, wie häufig im Laufe der Zeit die systematische Anordnung der Vertreter dieser Tierklasse gewechselt hat. Fragen wir nach dem Grunde dieser merkwürdigen Erscheinung, so müssen wir ihn wohl hauptsächlich in unserer mangelhaften Kenntnis der Phylogenie dieser mikroskopischen Wesen suchen, denn jedes natürliche System einer Tiergruppe wird durch die Phylogenie ihrer Vertreter begründet und gestützt.

Nun sollte man zwar annehmen, daß die phylogenetischen Verhältnisse gerade der Thalamophoren gut bekannt seien, da rezentes Material eingehend untersucht und fossiles in seltener Reichhaltigkeit und teilweise vorzüglicher Erhaltung vorhanden ist. Ja man kann wohl mit Recht behaupten, daß keine Tierklasse sich in so reicher Arten- und Individuenzahl in so frühe Epochen der Erdgeschichte zurückverfolgen läßt, wie gerade die der Thalamophoren. Indessen, es gibt unter den Thalamophoren Formen, die völlig isoliert dastehen und keinerlei Anschluß an andere Familien zulassen, während anderer-

seits, und dieser Fall ist der häufigere, der Möglichkeiten, Übergänge aufzustellen, viel zu viele sind, so daß man Gefahr läuft, äußere Ähnlichkeiten im Schalenbau, die sich durch Konvergenz erklären, für Kriterien natürlicher Verwandtschaft zu halten. So erklärt es sich, daß man lange von den phylogenetischen Beziehungen zwischen den einzelnen Gattungen der Thalamophoren nichts oder nur wenig wußte, und die Systematik lediglich auf der Basis der mehr oder minder willkürlichen Beurteilung des Schalenbaues stand.

Sehen wir von einer Arbeit SCHWAGER'S (9)¹⁾ ab, die sich nur darauf beschränkt, eine Übersicht der zeitlichen Aufeinanderfolge des paläontologischen Auftretens der Thalamophorengenera zu geben, so verdanken wir NEUMAYR (14) den ersten Versuch, die natürlichen Verwandtschaftsverhältnisse der Thalamophoren klarzustellen. Er suchte nachzuweisen, daß die Kammerzahl, die Art der Perforation und das Schalenmaterial nicht in dem Umfange als Klassifikationsprinzipien anwendbar seien, wie es vordem, besonders durch D'ORBIGNY, geschehen war. NEUMAYR legte mehr Gewicht auf die geometrischen Formen der Schale und unterschied danach vier Grundtypen, die er sämtlich auf die Astrorhiziden zurückzuführen suchte. Bald darauf stellte HAECKEL im ersten Bande seiner systematischen Phylogenie einen vollständigen Stammbaum der Thalamophoren auf (17, S. 191) und gründete darauf ein System, das erste, welches auf phylogenetischer Grundlage beruhte und daher Anspruch auf Natürlichkeit erheben konnte.

Auf den grundlegenden Arbeiten NEUMAYR'S und HAECKEL'S fußte RHUMBLER (18). Er nahm zunächst den bereits erwähnten Gedanken, alle Thalamophoren von den Sandschalern herzuleiten, wieder auf. Ferner führte er aber eine neue Betrachtungsweise ein, die den Bau der Thalamophoren nach mechanischen, man könnte sagen technisch-konstruktiven, Grundsätzen beurteilte. Indem RHUMBLER das Festigkeitsprinzip als treibende Kraft für die aufsteigende Entwicklung des Schalenbaues hinstellte, gewann er gleichzeitig einen Maßstab für die Beurteilung der Höhe der Entwicklungsstufe eines Thalamophorengenus.

Man hatte nun einen einheitlichen Gesichtspunkt, nach welchem ein Stammbaum der Foraminiferen aufgestellt werden konnte, und damit war ein wichtiger Schritt getan, der sich in seinen Konsequenzen als äußerst fruchtbringend erwies. RHUMBLER gelang es

¹⁾ Die eingeklammerten Ziffern beziehen sich auf den Literaturnachweis am Schluß der Arbeit.

nämlich, aus seinem Prinzip den Satz abzuleiten, daß das biogenetische Grundgesetz nicht allgemein auf den Schalenbau der Thalamophoren angewendet werden dürfe (18, S. 63). Er zeigte, daß der Embryonalteil der Schale mancher Thalamophoren, der sog. biformen Arten, auf einer höheren Entwicklungsstufe stehe, d. h. nach einem im mechanischen Sinne vollkommeneren Aufwindungsmodus gebaut sei als das Wachstumsende, obwohl man nach dem biogenetischen Grundgesetz gerade das Gegenteil erwarten sollte; denn bei höheren Tieren hatte man immer beobachtet, daß Neuerwerbungen ontogenetisch später auftreten als die ererbten Eigenschaften. Als eine wesentliche Stütze dieser Entdeckung muß es angesehen werden, daß es RHUMBLER gelang (21, S. 175 ff.), Gründe für ihre Erklärung beizubringen: konnte man doch nicht annehmen, daß die Natur ohne zwingende Gründe von einem so allgemeinen und, man könnte sagen, logisch selbstverständlichen Gesetz Ausnahmen zulasse. In diesem Lichte betrachtet, bildet die phylogenetisch abfallende Schalenontogenie der biformen Arten, abgesehen von ihrem allgemeinen Interesse, ein wichtiges heuristisches Moment zur Auffindung verwandtschaftlicher Beziehungen unter den Thalamophoren, indem der Embryonalteil der Schale das Ziel, das Wachstumsende den Ausgangspunkt der Entwicklung zu erkennen gibt.

Fassen wir kurz zusammen: NEUMAYR'S Abhandlung war im wesentlichen destruktiv, sie rechnete mit den veralteten Einteilungsprinzipien ab. RHUMBLER begann wieder aufzubauen. Die mechanischen Grundsätze des Gehäusebaues waren der leitende Gesichtspunkt für seinen Entwurf eines natürlichen Systems der Thalamophoren.

Die in der Einleitung erwähnten Arbeiten bezweckten die Aufstellung allgemeiner Leitsätze für die Konstruktion eines Stammbaumes der Thalamophoren und legten ihre Phylogenie in großen Umrissen dar: sie waren vorwiegend theoretischen Charakters. Im Gegensatz dazu gewährte eine Arbeit von HAEUSLER (15) zum ersten Male einen Einblick in den tatsächlichen Werdeprozeß eines Thalamophorengenus. Mit Rücksicht auf unsere folgenden Erörterungen wollen wir zunächst etwas näher auf die Ergebnisse der Abhandlung HAEUSLER'S eingehen.

HAEUSLER fand im oberen Lias von Banbury (Oxfordshire) eine Reihe von Ophthalmidien und Spirolokulinen, die zum großen Teil biform entwickelt waren und eine so große Variabilität zeigten, daß ihr Charakter als Übergangsformen unverkennbar zutage trat. Gleichzeitig mit ihnen kam *Nodobacularia tibia* (PARKER und JONES)

vor, und es gelang HAEUSLER ohne Mühe, die gefundenen Formen so in einer Reihe anzuordnen, daß eine lückenlose Kette von Entwicklungsstufen entstand, die von *Nodobacularia tibia* zu *Ophthalmidium* einerseits und *Spiroloculina* andererseits hinüberleitete. Neben dieser interessanten Aufdeckung der Entwicklungsgeschichte von *Spiroloculina* und *Ophthalmidium* gab HAEUSLER in derselben Arbeit noch die phylogenetische Ableitung von *Nubecularia* aus *Ophthalmidium* mit Hilfe der Zwischenform *Ophthalmidium nubeculariforme* HAEUSLER. Die von HAEUSLER seiner Arbeit beigegebenen Figuren sprechen eine so beredte Sprache, daß an der Richtigkeit der im Text niedergelegten Ansichten kein Zweifel bestehen kann.

Wir können es uns nicht versagen, die erwähnten Befunde HAEUSLER'S vom Standpunkte der RHUMBLER'schen Ideen aus noch eingehender zu betrachten und einige ergänzende Bemerkungen dazu zu geben. Was zunächst den Ausgangspunkt der Entwicklung, das Genus *Nodobacularia*, angeht, so wird dies von RHUMBLER phylogenetisch auf *Nodosinella* zurückgeführt (18, S. 85) und dadurch der Anschluß an die Sandschaler nach rückwärts hin erreicht. Die Entstehung der biformen Spezies erklärt sich folgendermaßen. Die ursprünglich gerade oder nur wenig gekrümmte *Nodobacularia tibia* begann sich spiralig einzurollen und so zu einem höher entwickelten Bauplan überzugehen. Dabei blieb das Wachstumsende anfangs noch gestreckt, weil zunächst die erste Schalenanlage einer größeren Festigkeit bedurfte, die späteren, größeren und widerstandsfähigeren Kammern aber vor der Hand noch nach dem alten Bauplane angelegt werden konnten und erst allmählich aus der geraden in die spiralige Form übergingen. Die so entstandenen biformen Entwicklungsstufen, z. B. *Ophthalmidium walfordi* HAEUSLER, zeigen deutlich die phylogenetisch abfallende Schalenontogenie, indem die letzten Kammern (oft nur eine) einen Rückschlag zur Ahnenstufe der *Nodobacularia tibia* bilden. Allmählich verloren aber diese bischofsstabähnlichen Formen ihren Übergangscharakter, gaben die Biformität auf und schlugen nun zwei verschiedene Entwicklungswege ein. Der erste, zu *Spiroloculina* führend, ist gekennzeichnet durch das Auftreten langgestreckter Formen, deren Gestalt durch einen regelmäßigen Wechsel in der Richtung des Kammerwachstums an zwei einander gegenüberliegenden Punkten der Schale (sog. miliolinides Wachstum) bedingt wird. Der zweite Weg ist bezeichnet durch mehr oder minder runde Exemplare und endigt in dem Genus *Nubecularia*.

Die Zweckmäßigkeit des Baues der Spirolokalineen, welche die Kammermündungen an zwei einander gegenüberliegenden Stellen

der Schale in der erwähnten Weise abwechselnd anlegen, muß man darin suchen, daß so eine feste Achse geschaffen wird, an deren beiden Seiten sich die Kammern entlangziehen. Die nebenstehende Figur A versucht diese Verhältnisse anschaulich zu machen. Wir werden weiter unten auf eine ganz analoge Erscheinung bei Gelegenheit der Besprechung von *Biloculina* stoßen. Hier sei nur noch erwähnt, daß bereits BURBACH (13) vor HAEUSLER aus dem Lias des großen Seeberges bei Gotha mehrere Ophthalmidien und Spirolokninen beschrieb, die ebenfalls eine sehr variable Gestalt besaßen und daher auch BURBACH den Gedanken nahelegten, phylogenetische Schlüsse aus ihnen zu ziehen. Indessen das Fehlen von *Nodobacularella* in dieser Schicht brachte BURBACH auf eine falsche Fährte. Er leitete *Ophthalmidium* von *Cornuspira* ab, ein Versuch, der seit dem Erscheinen der HAEUSLER'schen Arbeit als mißlungen gelten muß.



Fig. A.

Die soeben besprochene Arbeit von HAEUSLER hat mir als Vorbild gedient bei einer Untersuchung, über die ich jetzt näher berichten will. Ich werde den Befunden HAEUSLER's ganz analoge Beobachtungen an die Seite stellen, die ich an geschlammtem Thalamophorenmaterial machen konnte, das aus der Ziegeleigrube am Galgenberg bei Hildesheim stammt. Der Ton, der hier zur Ziegelfabrikation verwendet wird, gehört der Zone des *Stephanoceras* (*Macrocephalites*) *macrocephalus* und somit der Tiefstufe des oberen braunen Jura an. Es gelang mir, Vertreter der Thalamophorenfauna dieser Schicht in einer Reihe anzuordnen, die ganz wie bei der HAEUSLER'schen Arbeit die stufenweise Umwandlung eines Genus in ein anderes erkennen läßt. Und zwar handelt es sich hier um die phylogenetische Entwicklung der Gattung *Cornuspira*. Die beigegebene Textfig. B (p. 39) bringt die Abbildungen einiger Hauptstufen der in Rede stehenden phylogenetischen Reihe. Wir wollen an der Hand der Figuren versuchen, uns ein Bild von dem vorliegenden Entwicklungsprozeß zu machen, vorher jedoch noch betreffs des Erhaltungszustandes bemerken, daß fast alle Thalamophoren des erwähnten Fundortes ganz oder teilweise mit Eisenkies ausgefüllt sind. Diese Einlagerungen von Eisenkies, die RHUMBLER (16) eingehend beschrieben und erklärt hat, machen die damit behafteten Objekte für die mikroskopische Beobachtung mit durchfallendem Licht undurchsichtig. Die in unserem Falle in Betracht kommenden Sandröhren erscheinen daher

schwarz, bei der Beobachtung mit auffallendem Licht dagegen metallglänzend.

Der bereits angedeutete Entwicklungsprozeß, der nunmehr beschrieben werden soll, nimmt seinen Ausgang von einer sandschaligen Form, *Tolypammina vagans* (BRADY) (12, t. 24 f. 1 u. 2). Diese Spezies bildet eine einfache Röhre, deren Embryonalteil geschlossen ist. Das Wachstum erfolgt durch Anlagerung und Verkittung von Sandkörnern an dem offenen Röhrenende und ist ein kontinuierliches Trichterwachstum. Die Zunahme des Röhrendurchmessers mit dem Alter des Tieres ist gering, häufig sogar ganz unmerklich. Das Tier lebt angeheftet auf dünnen Plättchen aus Kalk (Trümmer von Mollusken-schalen) und zeigt in seinen unregelmäßigen Windungen noch keinerlei Gesetzmäßigkeit des Baues. Diese recht primitive Form, durch Fig. B.1 dargestellt, konnte auf verschiedene Weisen zu einem festeren und damit in der Entwicklung höher stehenden Bauplan übergehen. Es konnte entweder das sog. Knäuelwachstum eintreten, wobei sich die Röhre regellos, wie Garn zu einem Knäuel, aufwickelt, oder spiralege Einrollung in einer Ebene stattfindet. Die Spirale kommt bei sehr vielen Gattungen der Thalamophoren vor, erfreut sich aber auch sonst in der gesamten organischen Welt einer weiten Verbreitung, man denke nur an die Schalen der Mollusken. Die Vorteile des spiraligen Wachstums liegen außer in der größeren Festigkeit in der Verkleinerung der Oberfläche und der Ersparnis an Baumaterial, wie wir weiter unten sehen werden.

Der erste der beiden angedeuteten Wege, das Knäuelwachstum, ist in dem vorliegenden Falle der *Tolypammina vagans* nicht eingeschlagen worden. Dies läßt sich wohl darauf zurückführen, daß diese Art des Wachstums dem Atmungsbedürfnis nicht genügend Rechnung trägt, da die innersten Windungen völlig von der Kommunikation mit der Außenwelt abgeschlossen werden würden. *Tolypammina vagans* ging also zur spiraligen Einrollung über. Es ist von großem Interesse an den einzelnen Übergangsstadien zu verfolgen, wie nach mannigfachem Tasten und Probieren sich der reinspiralige Bildungstypus entwickelt hat. Zunächst trat eine sehr merkwürdige Erscheinung auf. Man sieht nämlich, wenn man eine Röhre vom Anfang bis zum Ende auf ihrem Linienzuge verfolgt, wie plötzlich in der Wachstumsrichtung ein Umbiegen um 180° eintritt (Fig. B.2). Den Schlüssel zur Erklärung dieser zunächst unverständlichen Erscheinung liefert die Beobachtung, daß die erwähnten Umkehrpunkte ziemlich in gerader Linie nebeneinander liegen. Man wird so unwillkürlich zu der Vermutung geführt, daß ursprünglich die Nähe

des Randes des Kalkplättchens, auf dem das Tier lebte, die Umkehr der Röhre bedingte. Später vererbte sich diese eigenartige Bauart,

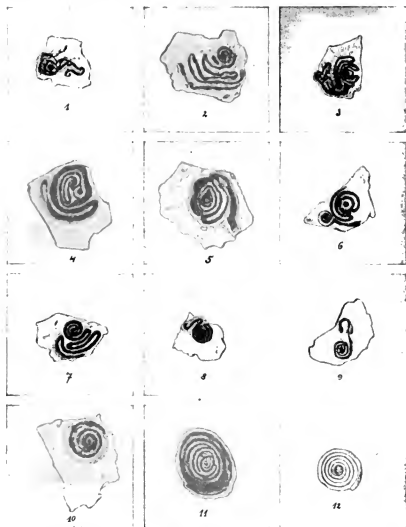


Fig. B.

und nun machte die Natur aus der Not eine Tugend: die Wand der vorher angelegten Röhre wurde, gewissermaßen auf dem Rückwege,

als seitlicher Schutz benutzt. Bei Fig. B, 2 ist dies noch nicht geschehen, bei Fig. B, 3—5 jedoch tritt es deutlich hervor. Dies und der allmählich sich der Kreisform nähernde Umriß waren die beiden ersten Schritte in der Entwicklung nach aufwärts.

Bis hierher kann, wie wir sehen, von einem eigentlich spiraligen Wachstum noch nicht die Rede sein. Dennoch liegen die Anfänge desselben schon vor. Jedenfalls mußte sich die Bauart der in Fig. 3—5 dargestellten Exemplare bewähren, weil sie gegen früher nicht zu unterschätzende Vorteile bot: Der sich der Kreisform nähernde Umriß enthielt bei gleicher Länge des Perimeters einen größeren Flächenraum als die unregelmäßig gebildeten Anfangsformen. Das innige Anschmiegen späterer Röhrenteile an früher angelegte Partien desselben Tieres brachte Ersparnis an Baumaterial mit sich, weil die bereits vorhandene Röhrenwand bei Weiterbau zum Teil mitbenutzt werden konnte. Andererseits wurde aber auch die Festigkeit vermehrt und die der Umgebung dargebotene Angriffsfläche verkleinert. Vorher nämlich war jede Röhre nach beiden Seiten und nach oben ungeschützt, jetzt aber blieb nur noch die Oberseite frei. Nur ein Nachteil war noch zu beseitigen: die mehr oder minder scharfen Ecken, die durch jene eigenartige Bauweise entstanden waren, welche in dem oben geschilderten plötzlichen Richtungswechsel des Wachstums bestand. Jeder Vorsprung an Körpern bildet einen Angriffspunkt für Kräfte, die zu Zerstörungen an dieser Stelle Veranlassung geben können. Die Notwendigkeit, die erworbenen Vorteile, Materialersparnis und vermehrten Schutz bei größerer Festigkeit, zu erhalten, scharfe Ecken dagegen zu vermeiden, führte konsequenterweise zur spiraligen Bauart. Nur diese konnte sich aus den vorhandenen Bedingungen mit immer größerer Bestimmtheit herausbilden.

Wie RUMBLER (21) nachgewiesen hat, bedarf der Embryonalteil der Thalamophorenschale besonderer Festigkeit zur Erhaltung seiner Existenz. Diese Tatsache bildet den Grund für das Auftreten von Neubildungen am Embryonalende. So trat auch in dem von uns behandelten Falle der spiralige Bau zuerst in der Jugend auf. Das Wachstumsende dagegen kehrte zunächst noch zu der alten Bauart zurück: es entstanden biforme Exemplare mit phylogenetisch abfallender Schalenontogenie. Fig. B, 6—9.

Allmählich verlor sich aber dieser unzweckmäßige Atavismus am Wachstumsende und es blieb der rein spiralig angebildete Bau übrig (Fig. B, 10). Um von dieser Form zu *Cornuspira* zu kommen,

ist nur noch ein Schritt nötig: Wechsel des Schalenmaterials.¹⁾ Der Wechsel im Baumaterial bedeutet natürlich wieder eine Vervollkommnung der Schale, welche von der Festigkeitsauslese aufgegriffen und allgemein durchgeführt wurde. Fig. B, 11 hat bereits eine Kalkschale, zeigt aber noch nicht den charakteristischen Typus einer *Cornuspira*, sondern dürfte noch als Übergangsglied zu der letztgenannten Gattung anzusehen sein. Fig. B, 12 endlich stellt eine echte *Cornuspira* dar, die ich mit *Cornuspira orbicula* Tq. und BERTH. (6, t. 11 f. 12) identifiziert habe.

Mit *Cornuspira orbicula* ist höchstwahrscheinlich *Spirillina tenuissima* GÜMBEL (2, t. 4 f. 12) aus dem Malm identisch, welche SCHWAGER etwas später im Lias wiederfand und als *Cornuspira tenuissima* (GÜMBEL) abbildete (3, t. 2 f. 5). Da nun *Spirillina* perforiert ist, *Cornuspira* dagegen nichtporöse Schalenwände besitzt, so müssen wir annehmen, daß *Cornuspira tenuissima* (GÜMBEL), im Lias noch unperforiert, die Perforation wahrscheinlich aus Gründen des Atmungsbedürfnisses erworben hat und im Malm in dieser vollkommeneren Ausbildung nun als *Spirillina* auftrat. Wir fassen also *Cornuspira* als eine Vorstufe von *Spirillina* auf. Bei der früheren Einteilung der Thalamophoren in *Perforata* und *Imperforata* wurden somit im vorliegenden Falle nahe Verwandte getrennt und an ganz verschiedenen Stellen des Systems untergebracht. Es ist interessant, festzustellen, daß dieser Mißstand bereits ziemlich früh erkannt wurde. Schon ZWINGLI und KÜBLER (4, S. 45) wollten *Spirillina* und *Cornuspira* nicht als zwei verschiedene Genera gelten lassen und hielten den Mangel oder das Vorhandensein der Perforation nur für ein Merkmal zur Unterscheidung der Spezies. Aber auch STEINMANN (11, S. 38, Anm. 17) erkannte die Zusammengehörigkeit von *Spirillina* und *Cornuspira* und konnte sich nicht entschließen, beide von einander zu trennen — ein für den damaligen Stand der Systematik der Thalamophoren immerhin kühner Schritt.

Es könnte den Anschein haben, als sei es meine Absicht gewesen, *Cornuspira orbicula*, also Fig. B, 12, aus Fig. B, 11 direkt abzuleiten. Dies lag mir jedoch ganz fern. Sollte ich eine *Cornuspira*-Spezies abgeben, die unserer durch Fig. B, 11 dargestellten Übergangsform nahe steht, und welche daher als ihr direkter Nachkomme gelten könnte, so würde ich vielmehr *Cornuspira uniusmalis* (TERQ.

¹⁾ Der Übergang von der Sandschaligkeit zur Kalkschaligkeit ist durchaus nichts Ungewöhnliches. Sehen wir von fossilen Beispielen für diese Erscheinung ab, so sind es besonders rezente Textulariden, die bald in kalkschaliger bald in sandschaliger Schalentextur auftreten.

und BERTH.) (6, t. 11 f. 13) oder *Cornuspira infraoolithica* Tq. (I, 3. mém. oolith. t. 25 f. 13) nennen. Da diese Formen aber in der untersuchten Tonschicht, aus der die Exemplare für unsere Abbildungen stammen, nicht vorkommen, sondern nur *Cornuspira orbicula*, so habe ich auch nur diese Spezies als Vertreter des Genus, welches den Endpunkt der beschriebenen Entwicklung bildet, hier bildlich angeführt.

Ziehen wir das Fazit aus den bisherigen auf diesen Punkt bezüglichen Erörterungen, so sahen wir, wie *Tolypammina* zur Jurazeit Variationen zeigte, die unter dem Einfluß der Festigkeitsanlese den Übergang zum spiraligen Wachstum bewirkten. Indem der neue Bauplan vorläufig nur am Primordialende realisiert wurde, entstand zunächst Biformität der Ausbildung, die sich aber allmählich verlor und nach Wechsel im Schalenmaterial dem Genus *Cornuspira* seine Entstehung gab. Vergleicht man dies Resultat mit dem der erwähnten Arbeit von HAEUSLER (15), so ist die Übereinstimmung im Gedankengang hier wie dort zu deutlich ins Auge fallend, als daß es noch nötig wäre, weiter darauf einzugehen. Diese Übereinstimmung ist keine erzwungene, sondern ergibt sich aus den Tatsachen, wenngleich ich natürlich die Absicht, sie noch deutlicher herauszuarbeiten, zugeben muß.

Wir müssen nun noch zwei Einwänden begegnen, die beide geeignet scheinen, das Resultat unserer Untersuchung in Frage zu stellen. Man könnte nämlich fragen, wie ist das Vorkommen von *Cornuspira* im Lias möglich, wenn dies Genus erst im Dogger entstanden sein soll? und zweitens, wie kann man unter diesen Umständen das Auftreten von *Cornuspira* und *Spirillina* sogar schon im Karbon erklären? Wir wollen beide Fragen zu beantworten suchen.

Prüfen wir zuerst die Unterlagen der zweiten Frage, so muß allerdings zugegeben werden, daß *Cornuspira* und *Spirillina* im Karbon vorkommen. STEINMANN bildet (10, t. 19 f. 1) *Cornuspira carbonaria* STEINMANN aus dem Kohlenkalk von Altwasser in Schlesien ab, und V. VON MÜLLER (8) beschreibt nicht weniger als vier verschiedene Spezies von *Spirillina* aus dem russischen Kohlenkalk, deren Form durchaus charakteristisch und deren Perforation deutlich erkennbar ist. Wir können demnach an der Existenz von *Cornuspira* und echten *Spirillinen* zur Karbonzeit nicht zweifeln. Steigen wir aber von der Steinkohlenformation in die höheren geologischen Horizonte auf, so bemerken wir, daß *Cornuspira* und *Spirillina* völlig fehlen und erst wieder im Jura vorkommen, und zwar zuerst *Cornuspira* im Lias, dann *Spirillina* im Dogger. Daraus folgt, daß die beiden erwähnten Genera nach dem Karbon ausgestorben waren — wie dies ja auch

mit vielen anderen Gattungen (*Fusulina*, *Endothyra* u. a.), die im Kohlenkalk prädominierten, der Fall ist — und sich erst in der Juraperiode in der oben beschriebenen Weise aus *Tolypamnina* wieder entwickelten. Die Möglichkeit eines solchen Schlusses, der vielleicht, oberflächlich betrachtet, etwas Gewagtes an sich zu haben scheint, ist bereits früher von RHUMBLER (18, S. 63—64) bei Gelegenheit der Besprechung der biformen Arten angegeben worden. Es soll hier auch nicht unerwähnt bleiben, daß JICKELI (22, S. 339) aus ganz allgemeinen, entwicklungstheoretischen Gründen bestreitet, daß eine Gattung sich durch so große Zeiträume hindurch unverändert erhalten könne, wie es bei *Cornuspira* im vorliegenden Falle angenommen werden müßte.

Ich möchte hier den Gedankengang auf kurze Zeit unterbrechen, um eine allgemeinere Bemerkung einzuschalten; es soll nämlich auf zwei Erscheinungen hingewiesen werden, die sich in so prägnanter Ausbildung wohl bei keiner anderen Tiergruppe als gerade bei den Thalamophoren beobachten lassen. Ich meine die exorbitante Lebensdauer mancher Spezies, wie z. B. *Lagena laevis* und *Lagena sulcata* neben *Truncatulina lobata* u. a. (vgl. 17, S. 184), und die kolossale Variabilität der Formen¹⁾ (vgl. 14, S. 170). Das Zusammentreffen dieser beiden Erscheinungen bei derselben Tiergruppe scheint mir kein zufälliges zu sein. Die Formenmannigfaltigkeit, durch die Einfachheit der Organisation ermöglicht, veranlaßt vielmehr das Wiederauftreten gleicher Gestalten zu verschiedenen, zeitlich weitgetrennten Perioden der Erdgeschichte. Und zwar werden sich natürlich solche Gestalten häufiger wiederholen, welche auf Grund der Festigkeitsauslese den gestellten Anforderungen im Kampf ums Dasein am vollkommensten entsprechen. Dabei kann es vorkommen, daß gleiche Formen, in verschiedenen geologischen Schichten auftretend, sich aus verschiedenen Vorfahren entwickelt haben, und ihre Ähnlichkeit als mechanische Konvergenzerscheinung zu erklären ist.

Fassen wir, den Faden der obigen Erörterungen wiederaufnehmend, das Gesagte zusammen, so scheint die Annahme zweier zeitlich getrennter, von verschiedenen Wurzeln ausgehender Entwicklungsreihen, die beide zur Entstehung derselben, „*Cornuspira*“ genannten, Schalenform führen, durchaus plausibel. Daraus schließen wir weiter, daß auch im Kohlenkalk ebenso wie im Jura *Spirillina* aus *Cornuspira* durch Erwerbung der Porosität hervorgegangen ist.

¹⁾ Das schönste Beispiel für die Variabilität der Formen bietet wohl die Gattung *Peneroplis*. Vgl. FN. DREYER, *Peneroplis*. Eine Studie zur biologischen Morphologie und zur Speziesfrage. Leipzig 1898.

Was nun den ersten der oben gemachten Einwände betrifft, das frühe Erscheinen von *Cornuspira* in der Juraperiode, so glauben wir ihn ungleich leichter entkräften zu können. Die chronologische Schwierigkeit, daß die Übergangsglieder zwischen *Tolypammina* und *Cornuspira* im Dogger vorkommen, *Cornuspira* selbst dagegen schon im Lias, besteht nur scheinbar und läßt sich dadurch erklären, daß mit dem Einsetzen der Juraformation ein Aufschwung in der Entwicklung des Genus *Tolypammina* eintrat, und so die Gattung *Cornuspira* entstand, die Übergangsformen aber neben den Neubildungen noch weiter bis in die Doggerablagerungen hinein lebten und erst allmählich ausstarben. Eine analoge Erscheinung liegt vor bei dem Entwicklungsprozeß von *Spiroloculina* usw. aus *Nodobacularia tibia*, den HAEUSLER aus dem Lias von Banbury beschrieb. Viele der von HAEUSLER abgebildeten Übergangsstufen habe ich im Dogger bei Hildesheim wiedergefunden. —

Aus *Spirillina* bildete sich nach RHUMBLER (18, S. 85) in der Kreide die *Patellina* en form herans, welche ihre höhere Organisation durch konische Gestalt und die Kammerung dartut. Die Vorteile, welche die Kammerung durch Einführung des periodischen Wachstums mit sich bringt, hat RHUMBLER zur Genüge klargestellt (18, S. 73), und außerdem eine deutliche Zwischenform zwischen *Spirillina* und *Patellina* aufgefunden. Er entdeckte nämlich im Thalamophorenmaterial der deutschen Plauktonexpedition eine neue *Spirillina*, die durch säckchenartige Ausstülpungen wie bei *Patellina* charakterisiert ist, und die ihn veranlaßte, *Patellina* zu den *Spirilliniden* zu stellen (18, S. 61 u. 85). Dem Gedanken RHUMBLER's, *Patellina* von *Spirillina* abzuleiten, den wir für zweifellos richtig halten, schloß sich auch SCHAUDINN (20, S. 181) an. Wir haben somit in der Reihe: *Tolypammina*, *Cornuspira*, *Spirillina*, *Patellina* einen Entwicklungszweig der Thalamophoren vor uns, dessen Vertreter paläontologisch aufeinanderfolgen, und dessen innerer Zusammenhang durch eine lückenlose Kette von Zwischenstufen verbürgt ist.

In derselben Beziehung wie *Patellina* zu *Spirillina* steht das von TERQUEM 1862 aufgestellte Genus *Involutina* (1, 2. mém. du Lias, S. 426 u. 450) zu *Ammodiscus*. Das Genus *Involutina* TERQUEM wurde 1874 durch BORNEMANN (5) einer kritischen Durchsicht unterzogen und als chaotisch erkannt. BORNEMANN teilte die hierher gehörigen Spezies in 4 Gruppen, von denen die erste *Ammodiscus* zugewiesen wurde; die beiden mittleren Gruppen erhielten als neue, selbständige Gattungen auch neue Namen, *Silicina* und *Problematica*, während die letzte die ursprüngliche Bezeichnung *Involutina* beibehielt.

Die erste Gruppe, zu der *Ammodiscus siliceus* [Tq.] und *Ammodiscus asper* [Tq.] gehören, besitzt wie *Ammodiscus* eine kieselige Schale mit spiraliger Aufwindung, doch ist die Röhre innen durch halbe Querwände in unechte Kammern geteilt. Betrachten wir dies Auftreten halber Querwände vom phylogenetischen Standpunkte aus, so müssen wir es als Versuch, die Kammerung einzuführen, und damit als einen Schritt nach vorwärts in der Entwicklung ansehen. Der Vorteil, den das Kammerwachstum im vorliegenden Falle (aber auch sonst häufig) mit sich bringt, ist ein doppelter. Einmal werden die Störungen, welche die Bautätigkeit hervorruft, auf gewisse Perioden beschränkt, andererseits erfährt das Gehäuse eine bedeutende Festigkeitssteigerung, weil die Schalenwand von Zeit zu Zeit durch Quersepta gestützt wird. Fragen wir uns nach dem Anlaß dieser Weiterbildung des Schalenbaues, so dürften ihn einzelne Individuen gegeben haben, welche die Mündungsöffnung mit einem kleineren Querschnitt anlegten, als die ganze Röhre. Mag dies nun aus Zufall — etwa durch in der Nähe liegende Fremdkörper, die im Wege waren — geschehen sein oder in dem Bestreben, sich vor äußeren schädlichen Einflüssen nach Möglichkeit zu schützen, jedenfalls zwang diese Neuerung geradezu zum periodischen Wachstum. Ein stetiges Weiterhau in der Richtung des letzten äußeren Röhrenendes hätte bei Individuen mit verengerter Schalenmündung zum völligen Verschuß des Gehäuses führen müssen. Die Bautätigkeit wurde also zunächst sistiert, während das Tier weiter wuchs. Es entstand so ein Mißverhältnis zwischen dem Rauminhalt des Gehäuses und der Größe seines Bewohners: ein Anbau wurde nötig, und die Sarkode mußte in größerer Menge austreten, um ein neues Schalensegment anzulegen.

Wenn nun auch die Vorteile dieses periodischen Wachstums, dessen Anfänge uns die erwähnten Formen, *Ammodiscus siliceus* und *Ammodiscus asper* deutlich vor Augen führen, einen unzweifelhaften Fortschritt bedeuten und somit eigentlich schon über die Gattung *Ammodiscus* hinausführen, so hat BORNEMANN doch recht daran getan, beide Spezies bei *Ammodiscus* stehen zu lassen. Die Nomenklatur der Thalamophoren ist schon kompliziert genug, und es bedarf nicht der Neubenennung von Formen mit relativ geringen Schalenvariationen. Andererseits scheint mir allerdings BRADY'S Maßnahme, die beiden erwähnten Spezies mit *Ammodiscus incertus* D'ORB. (12. S. 330) zu identifizieren, in der entgegengesetzten Richtung zu weit zu gehen.

Bei der zweiten und vierten der vier Gruppen, in die BORNEMANN

das TERQUEM'sche Genus *Involutina* aufgelöst hat, finden wir die Eigentümlichkeit, daß meist nur der letzte Umgang der Spirale sichtbar ist, alle übrigen Windungen sind durch sekundär aufgelagerte Schalensubstanz verdeckt. Hierdurch wird der äußere Habitus sehr verändert: die Oberfläche, bei *Ammodiscus* noch wellig, ist glatt geworden. Die Auflagerung sekundären Schalenmaterials, die wir auch sonst z. B. bei *Putellina* (20, S. 182) finden, vermehrt die Wanddicke und somit die Festigkeit. Die beiden Gruppen *Silicina* BORN. und *Involutina* BORN. bleiben im übrigen auf der Ausbildungsstufe halber Querwände stehen.

Die Einführung ganzer Querwände und damit echter Kammern vollzog sich erst an der dritten BORNEMANN'schen Gruppe, die den Namen *Problematica* erhielt. Bei diesem Genus haben wir noch eine weitere Neubildung zu verzeichnen, die Kegelgestalt, die besonders bei *Problematica petraea* (1, 5. mém. du Lias, t. 18. f. 17) hervortritt, und über deren Zweckmäßigkeit wir kein Wort zu verlieren brauchen — man denke nur an die Schalenbildung und deren Vorteile bei der bekannten Gattung *Putella* unter den Mollusken.

Das folgende Schema veranschaulicht den geschilderten Gang der Entwicklung:

keine oder halbe Querwände . . .	<i>Ammodiscus</i> . .	Umgänge sichtbar			
halbe Querwände	<table> <tr> <td><i>Silicina</i></td> <td rowspan="2">} nur der letzte Um-</td> </tr> <tr> <td><i>Involutina</i></td> </tr> </table>	<i>Silicina</i>	} nur der letzte Um-	<i>Involutina</i>	gang sichtbar
<i>Silicina</i>	} nur der letzte Um-				
<i>Involutina</i>					
ganze Querwände	<i>Problematica</i>				

Fassen wir zusammen und vergleichen die Weiterbildungen miteinander, die von den isomorphen Gattungen *Spirillina* und *Ammodiscus* ausgegangen sind, so ergeben sich eigenartig weitgehende Übereinstimmungen. In beiden Fällen haben wir den Übergang zum echten Kammerwachstum, zur konischen Gestalt und die Auflagerung sekundären Schalenmaterials.

Es könnte den Anschein haben, als ob aus Spezies mit ungekammerter, in einer Ebene spiralig aufgerollter Röhre stets gekammerte konische Formen entstehen müßten. Denn wenn zwei isomorphe Genera wie *Ammodiscus* und *Spirillina*, die zwar in der Gestalt übereinstimmen, sonst aber nichts miteinander zu tun haben, denselben Entwicklungsweg einschlugen, so kann man in der Tat auf den Gedanken kommen, daß dieser Weg der Ausdruck einer mechanischen Gesetzmäßigkeit sei. Dem ist indessen nicht so. Wir kennen Thalamophorenformen, die sich auch von *Ammodiscus* ableiten, aber eine ganz andere Ausbildung erhalten haben. Zwei

Genera erwarben einen neuen, festeren Aufwindungsmodus und konnten daher auf die Einführung der Kammerung verzichten. Dies sind die Gattungen *Gordiammina* RHUMBLER (18, S. 84), deren Windungen nicht in einer Ebene bleiben, sondern sich knäuelartig aufwickeln, und *Turritelopsis* RHUMBLER (18, S. 84), deren Gehäuse dem einer Schnecke gleicht und um eine relativ lange Achse in regelmäßigen Spiralwindungen verläuft. Beide Genera wurden früher zu *Ammodiscus* gezählt. Eine andere Gruppe, die der Miliolininen, behielt zwar die ursprüngliche Windungsebene bei, führte aber die Kammerung ein und zwar in besonderer, für die ganze Gruppe charakteristischer Weise. Wir sehen also, daß das oben erwähnte Hervorgehen konischer Formen aus spiralig-ebenen durchaus nicht die einzige Entwicklungsmöglichkeit darstellt, sondern daß auch andere vorlagen. Ja noch mehr. Die *Involutina*-ähnlichen Formen scheinen in eine Sackgasse der Entwicklung geraten zu sein, denn seit dem Jura hat man nichts mehr von ihnen gehört. Der Zweig der Miliolininen aber hat sich als äußerst lebenskräftig erwiesen, und seine Ausläufer reichen mit großer Formenmannigfaltigkeit und Individuenzahl bis in die Jetztzeit. Es bedarf daher keiner besonderen Rechtfertigung, wenn wir auf die Phylogenie dieser Unterfamilie etwas näher eingehen und damit die Zahl der von uns verfolgten Entwicklungsreihen noch um eins vermehren.

NEUMAYR sah zuerst (14, S. 171) in gewissen Vertretern der Gattung *Trochammina* Übergangsstufen von *Ammodiscus* zu den Miliolininen. *Trochammina* bildete lange Zeit eine Rumpelkammer für die Systematiker, in welche man alle möglichen Formen warf, die sonst schlecht unterzubringen waren. Einen ähnlichen Fall haben wir bei den Metazoen im Tierkreis der Würmer. Indem nun NEUMAYR den Geltungsbereich von *Trochammina* bedeutend beschränkte, schied er gewisse Formen aus, die der neuen Gattung *Agathammina* zugewiesen wurden und seiner Meinung nach von *Ammodiscus* zu den Miliolininen hinüberleiteten. RHUMBLER schloß sich dieser Auffassung nicht an, sondern ließ in seinem Entwurf eines natürlichen Systems der Thalamophoren (18) die Milioliden sämtlich aus den Nodosinelliden hervorgehen.

Sehen wir selbst zu, wie die Verhältnisse liegen. Schon im Karbon tritt eine Spezies auf, *Ammodiscus Roemeri* [STEINMANN] (10, t. 19, f. 2), die durch gewisse, wenn auch vorläufig nur angedeutete Einschnürungen ihrer Röhre die Tendenz zur Kammerbildung kundgibt. Diese Anfänge prägen sich in der rhätischen Stufe deutlicher aus an Formen, die CHAPMAN (19) beschrieb und

abbildete, und welche charakteristische Vertreter des Genus *Agathammina* NEUMAYR darstellen. Wir machen an ihnen ebenfalls die Bemerkung, daß sie von Zeit zu Zeit deutliche Einschnürungen bilden, die nur nicht mehr regellos, sondern stets an einander entgegengesetzten Stellen der Schale auftreten (vgl. 19, t. 11. f. 9).¹⁾ Erinnern wir uns an die oben beschriebene Entstehung von *Spiroculina*, so sehen wir, daß hier eine durchaus analoge Erscheinung vorliegt. In der Tat ist es dasselbe treibende Prinzip, welches hier wie dort das „miliolinide“ Wachstum hervorruft. Es bildet sich nämlich auf diesem Wege eine widerstandsfähigere, spindelförmige Gestalt heraus, die durch Gruppierung der Kammern um eine feste Längsachse noch an Halt gewinnt. Die Entstehung der festen Längsachse ist bedingt durch das alternierende Auftreten der Kammermündungen an entgegengesetzten Enden der Schale, womit größere Ablagerungen von Gehäusematerial an diesen Stellen verknüpft sind. Die Textfigur A auf Seite 37 versuchte dies klar zu machen. Bei den Miliolininen haben wir dann noch jenen eigentümlichen dornartigen Kalkfortsatz, der in die Mündung hineinragt und zum Schutz derselben dient; auch er trägt natürlich noch zu weiterer Verstärkung der Achse bei.

Verfolgen wir dann weiter die Zwischenstufen, die von *Ammodiscus* zu den Miliolininen führen, so schließen sich zunächst Formen mit folgerichtiger weiterer Ausprägung der angeführten Eigenschaften an, die CHAPMAN als *Ammodiscus robertsoni* (19, t. 11. f. 17. u. 16) anspricht. Zu den echten Miliolininen kann man dann schon *Triloculina variabilis* Tq. (1, 4. mém.ool. t. 35. f. 16) rechnen, die sich in bezug auf Gestalt und geologische Aufeinanderfolge an *Ammodiscus robertsoni* anschließt. Die Nachkommen dieser *Triloculina* oder ähnlicher Formen gingen zur kalkigen Schalentextur über und bildeten so die Basis, auf der sich die formenreiche Unterfamilie der Miliolininen aufbauen konnte.

RHUMBLER ist der Meinung (18, S. 68), daß die phylogenetische Entwicklung der Miliolininen durch die Reihe *Biloculina-Triloculina-Quinqueloculina* gegeben sei. Zwar lassen sich theoretische Gründe für diese Annahme anführen, doch scheinen mir die paläontologischen Tatsachen zu widersprechen. Denn TERQUEM beschreibt aus dem Jura (besonders 1, 4. mém. vol. t. 34 ff.) eine große Zahl von Vertretern der erwähnten Gruppe, und unter ihnen finden sich bereits deutlich ausgeprägte Quinqueloculinen, die nach RHUMBLER'S Angaben erst in der Kreide vorkommen (18, S. 66

¹⁾ Daneben kommen noch unsegmentierte Exemplare vor (l. c. t. 11. f. 8).

n. 88).¹⁾ Außerdem ist die Formenmannigfaltigkeit dieser Unterfamilie bereits im Jura so groß, daß man wohl annehmen muß, der Zweig der Miliolininen habe sich schon früh, d. h. bald nach seiner Entstehung in verschiedene Äste gegabelt, die seitdem parallel nebeneinander herliefen. Andererseits scheint es sogar, als ob die Miliolininen keine einheitliche Gruppe darstellten, denn das Erscheinen der biformen *Articulina* d'ORB. im Tertiär läßt auf einen Zuzug von seiten des Genus *Nodobacularia* schließen. Soviel steht wohl fest, daß der größte Teil aller Miliolininen im Sinne NEUMAYR's aus *Ammodiscus*-artigen Ahnen hervorgegangen ist, und daß höchstens seit der Tertiärzeit Nachkommen von *Nodobacularia* gleichfalls die miliolinide Ausbildung erlangten, und so eine Fusion eintrat, die uns nicht mehr gestattet, beide angeführte konvergente Entwicklungsreihen reinlich zu scheiden.

Von *Biloculina* leitet sich *Fabularia* ab, die ihrem Gehäuse durch innere Stützkonstruktionen zu weiterer Festigkeit verhalf. Diese Maßnahme war um so nötiger, als gerade bei *Biloculina* durch die Involution flache, breite Kammern erzeugt wurden, deren Außenwände einer relativ großen Druckbeanspruchung ausgesetzt sind.

Zum Schluß sei über die gewonnenen phylogenetischen Resultate noch einiges im Zusammenhang gesagt. Was zunächst den Zeitpunkt betrifft, in dem die behandelten Entwicklungsprozesse vor sich gingen, so war dies in allen vier Fällen die Juraperiode. Wir können daraus schließen, daß in dieser Epoche der Erdgeschichte allgemein ein Aufschwung in der Entwicklung der Thalamophoren stattfand, und dieser Schluß wird bestätigt durch das erste Erscheinen auch anderer Genera wie z. B. *Cristellaria*, *Polymorphina*, *Lagena* zu dieser Zeit. — Prüfen wir ferner, ob unseren Untersuchungsergebnissen ein Einfluß auf die Systematik der Thalamophoren zuerkannt werden muß. Zugrunde legen wir dabei das System der Foraminiferen, welches in dem bekannten Werke „Das Tierreich“ innegehalten werden wird, und das teilweise schon im Archiv für Protistenkunde (Bd. III, 1904) durch RUMBLEY veröffentlicht wurde. Es deckt sich übrigens, soweit bis jetzt ersichtlich, mit RUMBLEY's Entwurf eines natürlichen Systems der Thalamophoren (18). Wir geben diesem System vor allen anderen den Vor-

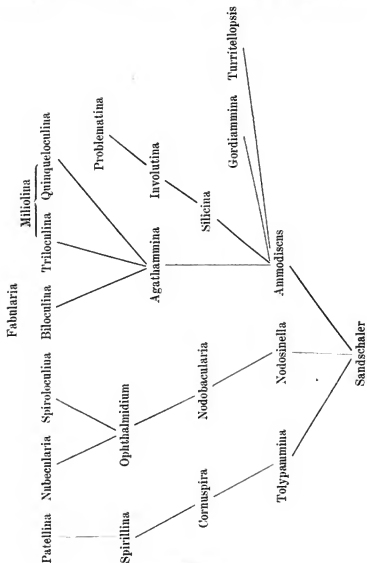
¹⁾ Mit BRADY (12, S. 137—138) bin ich der Ansicht, daß eine Unterscheidung zwischen *Triloculina* und *Quinqueloculina* sich nicht aufrecht erhalten läßt; beide sind vielmehr in dem Genus *Miliolina* zusammenzufassen.

zug, weil es am meisten auf die phylogenetischen Verhältnisse Rücksicht nimmt, ja eigentlich nur auf diesen basiert.

Zunächst muß *Spiroloculina* von den übrigen Miliolininen getrennt und nebst *Ophthalmidium* zu den Nubecularinen gestellt werden. Ferner wäre es wohl besser, *Cornuspira* unter den Spirilliniden einzureihen, zumal da dies Genus ohnehin schon unter den Ammodisciden ziemlich isoliert steht. Die *Involutina*-Gruppe dagegen, die RHUMBLER zu den Spirilliniden zählt, und die sich, wie wir sahen, eng an *Ammodiscus* anschließt, würde unter den Ammodisciden einen geeigneteren Platz finden; doch ist hierauf nicht weiter Gewicht zu legen, da sich *Involutina* nebst Verwandten nur fossil vorfindet. Die Geringfügigkeit dieser vorgeschlagenen systematischen Änderungen spricht für unsere obige Behauptung, daß die von RHUMBLER ausgearbeitete Klassifikation der Thalamophoren den natürlichen Verwandtschaftsverhältnissen derselben sehr nahe kommt. Im Gegensatz dazu sei eine Abhandlung von STEINMANN (11) erwähnt, in der ein großer Teil der oben behandelten Gattungen zu einer Gruppe der *Agathistega* vereinigt wurde. Der dort konstruierte Stammbaum entspricht jedoch keineswegs den tatsächlichen Verhältnissen und zeigt nur, wie gefährlich es ist, auf Grund theoretischer Spekulationen über die bloße Form und Zusammensetzung des Gehäuses phylogenetische Schlüsse zu ziehen, ohne dieselben durch paläontologische Befunde und Aufsuchen von Übergangsformen zu kontrollieren. Und gerade bei den Thalamophoren liegt es infolge ihrer Formenmannigfaltigkeit und Variabilität besonders nahe, Anklänge in der äußeren Gestalt zu voreiligen Konstruktionen „natürlicher“ Gruppen zu benutzen.

Um trotz der vorliegenden verwickelten Verhältnisse dennoch zu richtigen phylogenetischen Resultaten zu gelangen, bedarf es der Anwendung jener Forschungsmethode, die sich zu gleichen Teilen aus Induktion und Deduktion zusammensetzt. Die Induktion geht von den objektiven Befunden aus und läßt sich durch die paläontologischen Tatsachen leiten, die Deduktion stützt sich auf allgemeine Prinzipien, die bei der Entwicklung des ganzen Thalamophorenstammes eine Rolle spielen. Solche Prinzipien sind besonders der NEUMAYR'sche Gedanke, daß alle Foraminiferenfamilien in letzter Linie auf agglutinierende Vorfahren zurückgehen, und die RHUMBLER'sche Entdeckung, daß mechanische Probleme beim Gehäusebau eine hervorragende Rolle spielen. Daß es bei der Größe der zu überwindenden Schwierigkeiten dennoch gelang, wenigstens eine Übersicht, einen Entwurf eines natürlichen Systems der Thalamophoren aufzustellen — wenn auch im einzelnen noch vieles der Aufklärung

bedarf —, das verdankt die Wissenschaft eben den Ideen, welche NEUMAYR und RHUMBLER bei ihren Arbeiten leiteten, und deren Richtigkeit wir in der vorliegenden Arbeit bestätigt zu haben glauben.



Literaturverzeichnis.

(Historisch geordnet.)

- 1) TERQUEM, O.: Recherches sur les Foraminifères du Lias et du Système Oolithique de la Moselle. 11 parties. Metz 1858—1882. Avec 65 plchs.
- 2) GÜMBEL: Die Streitberger Schwammalager und ihre Foraminifereneinschlüsse. Jahresh. d. Ver. für vaterl. Naturk. in Württemberg, Jahrg. 18, 1862.
- 3) SCHWAGER: Beitrag zur Kenntnis der mikroskopischen Fauna jurassischer Schichten. Jahresh. d. Ver. für vaterl. Naturk. in Württemberg, Jahrg. 21, 1865.
- 4) ZWINGLI u. KÜBLER: Die Foraminiferen des schweiz. Jura. Winterthur 1870.
- 5) BOERNEMANN, L. G.: Über die Foraminiferengattung Involantina. Zeitschr. d. d. g. G. Bd. 26. 1874.
- 6) TERQUEM u. BERTHELIN: Étude microscopique des marnes du Lias moyen d'Essey-lès-Nancy. Mém. de la Soc. géol. de France, II. sér. Tome X. 1874—1877.
- 7) BRADY, H. B.: A monograph of carboniferous and permian Foraminifera (the genus Fusulina excepted). London 1876.
- 8) MÖLLEK, V. VON: Die Foraminiferen des russischen Kohlenkalkes. Mém. de l'Acad. de St. Pétersbourg Sér. VII. vol. 27. 1879.
- 9) SCHWAGER: Die paläontologische Entwicklung der Foraminiferen. Bonn, Klassen und Ordnungen des Tierreichs I, 1. 1880—1882.
- 10) STEINMANN: Mikroskopische Tierreste aus dem deutschen Kohlenkalke. Zeitschr. d. d. g. G. Bd. 32. 1880.
- 11) —: Die Foraminiferengattung Nummulinina n. g. Senes. Jahrb. f. Mineralogie usw. Bd. 1. 1881.
- 12) BRADY, H. B.: Report on the Foraminifera, in: Report on the scientific results of the exploring voyage of H. M. S. Challenger. Zoology Vol. IX. London 1884.
- 13) BURBACH: Beiträge zur Kenntnis der Foraminiferen des mittleren Lias vom großen Seeberg bei Gotha. Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. 59. 1886.
- 14) NEUMAYER, M.: Die natürlichen Verwandtschaftsverhältnisse der schalentragenden Foraminiferen. Sitz.-Ber. der k. Ak. d. Wiss. zu Wien, math.-naturw. Kl., Bd. 95. 1887.
- 15) HAUENBERG: Bemerkungen über einige liasische Milioliden. Neues Jahrb. f. Mineralogie usw. Bd. 1. 1887.
- 16) RHUMBLER: Eisenkiesablagerungen im verwesenden Weichkörper von Foraminiferen usw. Nachr. v. d. k. Ges. d. Wiss. zu Göttingen 1892.
- 17) HAECKEL, E.: Systematische Phylogenie. I. Teil. 1894.
- 18) RHUMBLER: Entwurf eines natürlichen Systems der Thalamophoren. Nachr. v. d. k. Ges. d. Wiss. zu Göttingen, math.-phys. Kl., 1895.
- 19) CHAPMAN, FR.: On Rhaetic Foraminifera from Wedmore, in Somerset. Ann. & Mag. of Nat. Hist. ser. 6. vol. 16. 1895.
- 20) SCHAUDINN: Über Plastogamie bei Foraminiferen. Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Freunde zu Berlin 1895.
- 21) RHUMBLER: Über die phylogenetisch abfallende Schalenontogenie der Foraminiferen und deren Erklärung. Verh. d. d. zool. Ges. Bd. 7. 1897.
- 22) JICKEL, C. F.: Die Unvollkommenheit des Stoffwechsels im Kampf ums Dasein. Berlin 1902.

Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

Gestaltsänderung und Plasmoptyse.

Von
Ludwik Garbowski.

(Hierzu Tafel VI.)

So unvollständig und lückenhaft das Mitzuteilende ist, so wage ich doch, es zu veröffentlichen, einmal deshalb, weil ich verhindert bin, das Thema weiter und genauer zu verarbeiten, und zweitens, weil auch die erhaltenen Resultate manchen Lichtstrahl in das abenteuerliche Gebiet der Plasmoptyse zu werfen, manches Mißverständnis aufzulösen imstande zu sein scheinen.

Die vorliegenden Untersuchungen habe ich als Stipendist des Galizischen Landesausschusses im botanischen Universitätslaboratorium in Basel ausgeführt.

Vibrio proteus.

I. Hefinfuskulturen.

Kultiviert man *Vibrio proteus* in einer alkalischen zuckerhaltigen Nährlösung, z. B. im Hefinfus, der mit Zucker und etwas Sodalösung versetzt ist, so bemerkt man, daß die Alkalität der Kulturflüssigkeit allmählich abnimmt, bis im Moment der maximalen Entwicklung (Trübung) ein Umschlag der Reaktion eintritt: die Flüssigkeit wird sauer und bleibt es bestehen; die weitere Entwicklung der Organismen wird gehemmt und die schon vorhandenen Individuen vergehen allmählich, was sich äußerlich durch die Klärung der Kulturflüssigkeit kennzeichnet. Diese Säurebildung ist von der Menge des vorhandenen

Zuckers direkt abhängig, wovon man sich überzeugen kann, indem man die Entwicklung des Organismus in Lösungen von verschiedenem Zuckergehalte verfolgt. Die Entwicklung ist aber auch in hohem Maße von der Menge des angesäten Materials abhängig. Man muß daher dafür sorgen, eine möglichst gleichmäßige Aussaat vorzunehmen, wenn man vergleichbare Resultate erhalten will. Zu diesem Zwecke habe ich so verfahren, daß ich mir zuerst eine Aufschwemmung des zur Aussaat bestimmten Materials in etwas Nährflüssigkeit darstellte, und erst von dieser in bekannter Weise mit der Öse überimpfte. Es kam zur Untersuchung alkalischer Heuinfus ohne Zucker, mit 0,1, 1 und 10 Proz. Zuckerzusatz. Die 10proz. Lösung war nach 14 Stunden (bei 32°) deutlich getrübt und wies auch schon eine schwachsaure Reaktion auf, während zu dieser Zeit in der 1proz. Lösung nur eine ganz schwache Trübung zu bemerken war, und die Flüssigkeit reagierte hier ebenso wie in den äußerlich nicht veränderten anderen Röhrchen noch deutlich alkalisch. Eine schwachsaure Reaktion in der 1proz. Lösung konnte man erst nach 40 Stunden wahrnehmen, die 0,1proz. Lösung — gleichzeitig untersucht — war neutral, beide zeigten eine deutliche Trübung, während Heuinfus ohne Zuckerzusatz noch alkalisch reagierte und nicht getrübt war. Ein oder zwei Tage später tritt auch in der letzten Kultur ein Umschlag der Reaktion ein und die geringe (wegen Nährstoffmangel) Trübung verschwindet allmählich.

Die mikroskopische Untersuchung einer frisch geimpften flüssigen Kultur von *Vibrio proteus* zeigt in den Anfangsstadien der Entwicklung fast nur die gewöhnlichen Vibrionenformen. In den mehr konzentrierten Nährmedien (10proz. Lösung) teilen sich die Vibrionen rascher und vollständiger.

Man sieht hier selten längere Ketten zusammenhängender Individuen, es überwiegt vielmehr die Gestalt der einzelnen — meist eben in Teilung begriffenen — Vibrionen; hier und da trifft man nicht lange, aus einigen Individuen (4—6) bestehende Kettchen.

In einer verdünnten Lösung (Heuinfus ohne Zucker) kommen die längeren Ketten viel öfter vor — offenbar infolge der gehemmten Entwicklung wegen Mangel an Nährstoff — und die Einzelindividuen sehen im Vergleich mit denjenigen der besser gezüchteten Familie kümmerlich aus.

Nach einigen Stunden¹⁾ erscheinen in den Kulturen rundliche Gebilde, deren einige mit längeren oder kürzeren Anhängseln versehen sind; diese haften wie Schwänzchen an den unruhigen

¹⁾ Eine genaue Zeitangabe hat nach dem, was oben gesagt, keinen praktischen Wert.

Kügelchen und werden von ihnen mitgeschleppt (Taf. VI Fig. 1). Das Ganze macht den Eindruck eines eigentümlich gestalteten einheitlichen Organismus. Zuweilen gelingt es, Gestalten zu beobachten, deren Zustandekommen auf den ersten Blick ganz rätselhaft erscheint, z. B. eine große Kugel, an der eine lange Kette haftet oder Kugeln mit zwei, drei oder mehr Anhängseln zugleich (Taf. VI Fig. 2). Gleichzeitig sieht man, daß die Vibrionen immer mehr aufgeblähte Formen anweisen bis zu vollkommen abgerundeten Kugeln, welche oft an der Oberfläche ein oder zwei hervorragende Körnchen tragen. Die Kugeln erscheinen später immer zahlreicher, sind unbeweglich und bilden scheinbar das letzte Stadium einer eigentümlichen degenerativen Entwicklung, welche sich im Kulturmedium abspielt. In einer wieder fast durchsichtig gewordenen zuckerhaltigen Hefenkultur sind keine beweglichen Formen mehr, nur die ruhig liegenden Kügelchen und einige dünne schwach gewundene Vibrionen, die fast Stäbchenform besitzen, zu sehen. Dieser Zustand trat z. B. in einer 10proz. Zuckerlösungskultur am fünften Tage ein.

Der geschilderte allgemeine Entwicklungsgang gilt für die Bruttemperatur 32°. In Kulturen, welche bei Zimmertemperatur (ca. 20°) gehalten werden, tritt die Kugelbildung viel später und nur teilweise ein, so daß sogar in alten Kulturen noch viele Vibrionengestalten sich finden.

Es fragt sich nun, wie entstehen die kugeligen Gestalten aus den normalen Vibrionenformen? Kommt hier eine Abrundung mit einer gewissen Aufblähung der Bakterienzelle zustande (Ansicht von Professor AR. MEYER in Marburg), oder sind die beweglichen runden Gebilde die von den Vibrionen angeschwommenen sogenannten Plasmoptyskugeln (Ansicht von Professor ALFRED FISCHER in Basel)¹⁾?

II. Versuche mit Wirkung von Ammoniak und Essigsäure.

Die direkte Beobachtung im Hängetropfen, mag sie auch so lange und mit der größten Geduld vorgenommen werden, gibt keinen Aufschluß über die Entstehung der runden Gebilde aus den gewöhnlichen Vibrionen, denn die ersten Kügelchen, die zum Vorschein kommen, werden aus beweglichen Individuen gebildet und diese lassen sich in ihren Formveränderungen nicht verfolgen, die später erscheinenden ruhigen runden Individuen sind zwar durch ovale Zwischenformen mit den länglichen Gestalten verbunden, ihre Ent-

¹⁾ Siehe Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1905—1906.

stellung aus den letzteren läßt sich aber unmittelbar nicht beobachten: überhaupt alle Gestalten im Hängetropfen verhalten sich in dieser Beziehung träge.

Da die Formveränderungen allem Anschein nach mit der allmählichen Säuerung des Kulturmediums im Zusammenhange stehen, so wäre vor allem die Wirkung von Säure und Alkali auf die Vibrionen zu untersuchen. Als Säure kam Essigsäure, als Base kam Ammoniak zur Anwendung. Die Beobachtung geschah auf folgende Weise. Das Deckgläschen mit einem Hängetropfen von 2 bis 3 mm Durchmesser wurde auf dem Objektträger mittels Fett so aufgeklebt, daß zwischen beiden ein Spalt von etwa $\frac{1}{8}$ mm Dicke freiblieb (die Spaltweite kann durch Unterlegen eines Papier- oder Kartonstreifens beim Aufkleben des Deckgläschens richtig und immer gleich gehalten werden). In diesen Spalt kam nun das entsprechende wirksame Agens, welches so den Verschuß der kleinen feuchten Kammer ausmachte. Auf solche Weise konnte die Wirkung der Säuerung resp. Alkalisierung des Mediums auf die Gestalt der Organismen vom ersten Moment an beobachtet werden, was eben der Zweck dieser Versuche war.

Es wurden untersucht die verschiedenen Heuinfuskulturen (0. 0. 1. 1 und 10proz. Zuckerlösungen) in verschiedenen Stadien ihrer Entwicklung. Die Stärke der zur Anwendung gekommenen Lösungen variierte zwischen 0,01 bis 1 Proz. $\text{C}_2\text{H}_3\text{COOH}$ - resp. NH_3 -Gehalt (vom Acid. acet. glaciale und Liquor ammonii caustici, der für 20 Proz. angenommen wurde, ausgehend).

Das allgemeine Resultat, welches sich von einer größeren Anzahl einzelner Beobachtungen ziehen ließ, ist folgendes:

In einer gewissen Wachstumsperiode, welche dem Zeitpunkt der maximalen Entwicklung (Trübung) vorangeht, als noch fast nur die normal geformten Vibrionen vorhanden sind und ihre Lebensfreude in den regen Bewegungen äußern, sind die Organismen besonders empfindlich, sowohl gegen eine Säure-, wie Ammoniakwirkung. Dieser Zeitpunkt kann schon nach 16 bis 20 Stunden (z. B. in einer 10proz. Zuckerlösungskultur bei 32°) aber auch viel später (erst nach 40 Stunden in einer 1proz. Zuckerlösungskultur) eintreten. Im Hängetropfen aus einer solchen Kultur, die sich eben trübt, aber noch alkalische Reaktion aufweist, läßt sich durch längere Einwirkung der Essigsäure- resp. Ammoniakdämpfe die Erscheinung einer deutlichen, wenn auch nicht allgemeinen Plasmoptyse hervorrufen. Die Konzentrationen der frisch bereiteten Säure- und Ammoniaklösungen, welche sich in der gewünschten Richtung erfolgreich erwiesen,

schwankten zwischen 0,1 bis 0,5 Proz., wobei allgemein, wegen der alkalischen Reaktion des Mediums selbst, eine stärkere Säure- (etwa 0,2 Proz.), als Ammoniakkonzentration (0,1 Proz.) nötig war. Die Konzentration der Säure konnte manchmal bis zu 1 Proz. gesteigert werden, während eine gleich starke Ammoniaklösung schon immer tödlich wirkte. Kurz nach dem Einlassen der Säurelösung in den Spalt bemerkt man eine fast allgemeine Hemmung der Beweglichkeit. Nach Verlauf einer gewissen Zeit, manchmal schon nach 10 bis 20 Minuten, manchmal aber erst nach $\frac{1}{2}$ bis $\frac{3}{4}$ Stunden und darüber läßt sich bemerken, daß an den Enden einiger weniggliedriger Kettchen entweder einseitig, oder seltener von beiden Seiten winzige Pünktchen entstehen. Wegen der außerordentlichen Kleinheit der Objekte (gearbeitet wurde mit LEITZ-Immersion und Okular 3) läßt sich das Auftreten dieser Pünktchen nicht eher bemerken, bis ihr Durchmesser die Dicke des Stäbchens eben zu über treffen beginnt. Es wird auch die Beobachtung der Entstehung dieser Gebilde ganz bedeutend durch fast regelmäßiges Auftreten dunkler Körnchen an den Spitzen der Vibrionen erschwert. Immerhin lassen sich folgende Stadien notieren (Taf. VI Fig. 3):

a) ein liegendes Stäbchen von gleichmäßiger Dicke mit dem erwähnten sich abhebenden schwärzlichen Inhalt an den Enden;

b) an einem oder an beiden Enden tritt ein dunkles Körnchen mehr hervor, wobei man gleichzeitig den Eindruck einer kleinen Schwellung an dieser Stelle bekommt;

c) die Schwellung wird ganz deutlich und es entsteht an der Beobachtungsstelle ein Kügelchen, dessen Durchmesser die Stäbchendicke zwei bis drei bis mehrmals übersteigt.

Der Übergang von b zu c kann zuweilen direkt verfolgt werden. Man sieht alsdann, wie im Verlauf einer kurzen Zeit (etwa 2 bis 3 Minuten) das Körnchen sich zum Kügelchen aufbläht, wobei die Stäbchendicke scheinbar etwas abnimmt. Mit einem Ruck läßt sich zuweilen diese Kugelbildung durch Ersetzen der Säure in der Spaltöffnung mit Ammoniak zustande bringen, doch meistens wird auf diese Weise die anfängliche Säurewirkung aufgehoben und jede weitere Gestaltsänderung der Organismen paralyisiert. Läßt man aber von vornherein Ammoniak allein andauernd wirken, so gelingt, wie gesagt, dasselbe wie mit Säure zu erreichen; nur wirkt Ammoniak nicht so bewegungshemmend, wie die Säure, was die Beobachtung begreiflicherweise erschwert. Es gelang mir auch viel öfter mit Säure eine deutliche Wirkung zu erzielen, als mit Ammoniak.

Wäre die geschilderte Wirkung der Essigsäure- resp. Ammoniak-

dämpfe die einzige, so könnte man vielleicht den Schluß ziehen, daß alle runden Gebilde in einer älteren flüssigen Kultur von *Vibrio proteus* auf diese Weise entstanden sind. Das ist aber nicht der Fall. Verhältnismäßig wenige Individuen lassen so deutlich die Kügelchen an ihren Enden entstehen. Die anderen — und das ist die Mehrzahl — werden in ihrer Form entweder gar nicht beeinflusst, oder aber runden sich selbst ab ohne zu plasmoptieren. Dieser letzte Vorgang tritt am besten im Hängetropfen einer solchen Kultur zum Vorschein, die neben den gestreckten Formen noch etwas aufgeblähte Gestalten enthält, welche noch deutlich ihre beiden Durchmesser erkennen lassen. Diese sind es, welche nach der entsprechenden Wirkungszeit der obengenannten Agentien zum Teil verschwinden und zu gesetzmäßig abgerundeten Kugeln werden (Taf. VI Fig. 4) mit einem oder noch öfter mit zweien an ihrer Oberfläche sich abhebenden Pünktchen. Die unmittelbare Entstehung dieser Abrundungskugeln aus den Vibrionen konnte ich bei diesen Versuchen nicht verfolgen. Es ist aber noch eine Gestalt, welche zuweilen nach der Säure- resp. NH_3 -Wirkung zum Vorschein kommt und welche unzweifelhaft die Plasmoptyse ausschließt, das ist die einer Reihe nebeneinander gelagerter Kügelchen, welche aus einer Kette noch nicht getrennter aufgeblähter Vibrionen entstanden ist (Taf. VI Fig. 5).

Nach dem, was gesagt ist, drängt sich schon jetzt der Schluß auf, daß die beiden Vorgänge — Abrundung und Plasmoptyse — in den Kulturen sich nebeneinander abspielen, daß vielleicht der eine (Plasmoptyse) durch den anderen (Abrundung) gedeckt wird und wenn z. B. die Bilder auf Fig. 2 gewiß für ein bloßes Anhaften von Vibrionen und Vibrionenketten an abgerundeten und aufgeblähten Kugeln sprechen, so ist wieder die Entstehung eines Kügelchens am Ende der kurzen Kettchen, wie Fig. 3 darstellt, auch bewiesen. Solche Bilder, wie Fig. 1, lassen a priori kein Urteil zu: entstand das Kügelchen aus dem ausgepreßten und aufgeblähten Inhalte des Stäbchens, oder stellt es eine Abrundungskugel dar, an welcher ein anderer Organismus nur oberflächlich festgeklebt ist.

Aus den Versuchen hat sich ferner kein prinzipieller Unterschied in der Wirkung von Essigsäure und Ammoniak auf die Formveränderung von *Vibrio proteus* ergeben. Man konnte sich mehrmals überzeugen, daß die gleichen Gestalten ebenso bei saurer wie auch bei alkalischer Reaktion des Hängetropfens auftreten.

Professor ALFRED FISCHER¹⁾ unterscheidet zwei Arten von Ab-

¹⁾ Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. XXII S. 57.

was bei der langen Beobachtungszeit leicht zu Verwechslungen führen kann — sondern an ihrer Gesamtheit verfolgen zu können. Ein solches Material liefert eine bei 32° während 20 Stunden vorgezuchtete Agarstrichkultur, die später bei Zimmertemperatur gehalten wird. Bei längerer Wirkung der Bruttemperatur tritt bald eine Degeneration ein, welche sich in der unregelmäßigen Form der Vibrionen und ihrer verschiedenen Größe mit ausgesprochener Neigung zur Verkleinerung und Verkümmern äußert. Es treten auch die runden Gestalten bei der warmen Züchtung viel früher auf, was schon bei den flüssigen Kulturen auffällt und hier ganz deutlich zum Vorschein kommt. Wird aber die Kultur rechtzeitig der Wärmewirkung entzogen, so weist sie auf der gleichmäßig bewachsenen Oberfläche fast nur die normalen gekrümmten Gestalten auf. Will man möglichst lange die Kultur in dem gewünschten Zustande behalten, so ist darauf zu achten, daß die Bakterienwachstumsfläche nicht durch das Kondenswasser bespült wird; in diesem, wie überhaupt in jeder flüssigen Kultur, entstehen nämlich sehr bald die runden Gestalten, zuerst bewegliche, dann unbewegliche und bilden einen weißen Bodensatz. Dieser Unterschied im Aussehen der Gestalten von *Vibrio proteus* in demselben Agarröhrchen läßt vermuten, daß es vielleicht der Mangel an Sauerstoff, ganz besonders aber der durch die flüssige Umgebung erleichterte Diffusionsaustausch zwischen der Bakterienzelle und ihrem sich erschöpfenden Nährmedium ist, welcher die Gestaltsveränderung in erster Linie verursacht. In der Tat, das Begehren nach Sauerstoff äußert sich auch in den flüssigen Kulturen durch die Kahlhautbildung im gewissen Entwicklungsstadium und es kommt auch im Hängetropfen zum Vorschein. Den Einfluß des Sauerstoffs auf die Formveränderungen von *Vibrio proteus* habe ich nicht untersucht und mich nur auf die zweite Frage, auf die Einwirkung des Nährstoffgehaltes der flüssigen Umgebung beschränkt.

Es wurde zuerst das Verhalten der Vibrionen in Lösungen von Kochsalz, Soda, Rohrzucker, Harnstoff und Glycerin untersucht. Zu diesem Zwecke wurde eine Aufschwemmung von etwas Kulturmaterial in einigen Tropfen Leitungswasser gemacht und davon eine kleine Öse (etwa 1 mm im Durchmesser) in den Hängetropfen, welcher aus der untersuchten Lösung angelegt wurde, übertragen. So rasch wie möglich begann die Beobachtung. Es gelangen zur Untersuchung folgende Kochsalzlösungen: 5, 1, 0,5 und 0,1 Proz. Die Wirkung der 5proz. Lösung war zu stark: die Bakterien klebten zu Haufen und blieben unbeweglich an einer Stelle. Das Verhalten in

1 nud 0,5proz. NaCl-Lösung war in der Hauptsache dasselbe: es trat sofort eine allgemeine Plasmolyse bei den Bakterien ein (Taf. VI Fig. 6); sie blieben meist unbeweglich an der Stelle, viele am Deckgläschen klebend; hier und da sah man die plasmolysierten Individuen herumschwimmen, aber schon nach 2 Stunden trat fast vollständige Ruhe ein. Nach 5 Stunden konnte man ein teilweises Zurücktreten der Plasmolyse wahrnehmen; ruhig blieben die in ihren Umrissen unveränderten Stäbchen liegen; man konnte jetzt in ihrem Innern Körnchen hervortreten sehen, gewöhnlich nur an den Enden, seltener auch in der Mitte. Dieser Zustand blieb unverändert auch nach 8 Stunden. In einem Fall, wo zur Untersuchung die mehr abgerundeten Gestalten gelangen, unter denen auch Kugeln sich befanden, sah man, wie beim Eintreten der Plasmolyse der Inhalt der Kugeln und der ovalen Gestalten sich an der Peripherie ungleichförmig ansammelte und in der Mitte eine Vakuole entstand, welche rings von einem Plasmaschlauch umgeben war (Taf. VI Fig. 7).¹⁾

In der 0,1proz. NaCl-Lösung trat keine Plasmolyse mehr ein. Die Stäbchen wurden nur in ihren Bewegungen anscheinlich gehemmt und klebten auch in großer Anzahl am Deckgläschen.

Ganz merkwürdige Gestalten von *Vibrio proteus* wurden in stark mit Na_2CO_3 alkalisch gemachten Lösungen von Zuckerbouillon²⁾ beobachtet. Überhaupt der Organismus scheint ganz besonders für alkalisches (aber nicht NH_3 -haltiges) Kulturmedium prädisponiert zu sein. Schon beim direkten Übertragen einer Spur des Kulturmaterials aus der Agarkultur in den Hängetropfen von 1proz. Na_2CO_3 -Lösung bemerkt man, wie die Zellen nach einer kurzen Anpassungszeit die vollkommenste *Vibriogestalt* annehmen. Schlank, an den Enden zugespitzt, lassen sie die morphologischen Charakteristika der *Vibrioform* besonders deutlich hervortreten (Taf. VI Fig. 8). Man bemerkt auch, daß die Entwicklung in einer stärker alkalisch gemachten Zuckerbouillonkultur rascher und kräftiger erfolgt als ohne

¹⁾ Diese Art der Plasmolyse deutet allerdings darauf hin, daß der Protoplast bei *Vibrio proteus* vielleicht nicht ganz lose von seiner Hülle umgeben ist, wie etwa in einer *Spirogyrazelle*, sondern daß an gewissen Stellen ein mehr inniger Zusammenhang zwischen dem plasmatischen Inhalte und seiner Membran besteht. Auch die Plasmolysegehirde der normalen Vibrionen machen den Eindruck, daß an den Enden die Plasmamasse nicht bloß an die Membran anliegt, sondern vielleicht mit ihr verwachsen ist, denn es gelingt nie, ein Abheben der Membran vom Zellinhalte an dieser Stelle zu sehen.

²⁾ Überall, wo von Zuckerbouillon die Rede ist, soll schwach alkalische Fleischwasserpeptonlösung ohne Salz, aber mit 1 Proz. Rohrzuckerzusatz, gemeint werden.

Na_2CO_3 -Zusatz. Es wurden z. B. zwei Zuckerbouillonkulturen angelegt, eine mit Zusatz von 0,5 ccm einer 10proz. Na_2CO_3 -Lösung, eine zweite mit 1 ccm derselben Lösung. Sie wurden ungefähr mit der gleichen Menge Aussaatmaterial geimpft und 16 Stunden bei 32° gehalten. Beide waren am folgenden Morgen ganz milchig getrübt und die 1proz. Lösung deutlich stärker, als die 0,5proz.; die erste zeigte auch schon einen großen Bodensatz. Die mikroskopische Untersuchung erwies sehr viele winzige Kügelchen, unter denen man größere eigentümlich birnenförmig gestaltete Zellen bemerken konnte (Taf. VI Fig. 9).

Gleichzeitig mit den Proberröhrchen wurde eine Aussaat desselben Impfmateri als in U hrgläschen mit denselben Nährlösungen vorgenommen und über Nacht in der feuchten Kammer bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Hier waren keine Kugelgestalten zu sehen. Man vernahm anstatt dessen unter den normal gestalteten Vibrionen ziemlich viele merkwürdig schief trompeten- oder hornartig geformte Individuen (Taf. VI Fig. 10); manche sahen unsymmetrisch halbkugelförmig, zuweilen mit einer Aufblähung an der Kreisfläche aus. Sie waren alle beweglich; einige besaßen in der Mitte eine Vakuole. Das breite Ende erschien bei geeigneter Stellung des Organismus kreisrund. Viele von den Zellen waren bedeutend größer als die in Mehrzahl befindlichen Vibrionen, es gab aber auch solche, die dieselben kaum in ihrer Größe übertrafen. Nach ihrer Gestalt erinnerten einige von ihnen, besonders die größeren, wie z. B. *a* und *b*, die an dem breiten Ende auch eine Art Kragen besaßen, etwa an eine kleine *Vorticella*. In einem anderen Falle, wo die Untersuchung der U hrgläschen etwas später erfolgte, besaßen diese Riesenvibrionen einen etwas veränderten Bau: das breite Ende war abgerundet und fast ausnahmslos mit einer Vakuole, ungefähr in der Mitte, ausgestattet; zuweilen war dieselbe endständig (Taf. VI Fig. 11).

Eine Abrundung am breiten Ende zeigten die trompetenförmigen Zellen beim Übertragen in die gewöhnliche Zuckerbouillonlösung, wobei die Vakuole meist verschwand. Umgekehrt, beim Übertragen in eine 1proz. Na_2CO_3 -Lösung konnte man das Entstehen einer zweiten Vakuole an dem schmalen Zellenende sehen, welches dadurch breiter wurde (Taf. VI Fig. 12).

Der Inhalt der U hrgläschen wurde noch einmal am dritten Tage nach der Aussaat revidiert. Die reichlich vermehrten normalen Vibrionen waren sämtlich gut beweglich. Ebenso verhielten sich auch die kleineren birnenförmigen Zellen. Die großen dagegen sah man meistens ruhig liegen, fast jede an ihrem schmalen Ende oder

seltener rings herum dicht mit den Vibrionen besetzt. Weiter wurde die Entwicklungsgeschichte und die Formveränderungen von *Vibrio proteus* in den alkalischen Nährmedien nicht untersucht.

Beim Abbrechen der Versuche war die Reaktion des Uhrgläschcheninhaltes noch stark alkalisch.

Das Verhalten der Vibrionen in einer 1–10proz. Rohrzuckerlösung bot wenig Charakteristisches. Sie blieben lange Zeit — bis über 3 Stunden — beweglich und behielten meist auch ihre normale Gestalt bei. Hier und da konnte man vielleicht eine Aufblähung bemerken; ganz vereinzelt trat eine Plasmoptysegestalt auf. Nach 5 Stunden lag die Mehrzahl ruhig, gleichmäßig im Tropfen verteilt — ein Bild, das bei der Revision nach Verlauf von noch 3 Stunden unverändert geblieben war. Eine 20proz. Zuckerlösung, in der sich der Organismus noch ganz gut entwickelt, wirkte sofort lähmend auf die Bewegung der aus Wasser übertragenen Individuen ohne jeglichen Einfluß auf ihre Gestalt.

Ebenso verhielt sich eine 3–0,5proz. Harnstofflösung: Die Organismen blieben nach dem Eintragen sofort an Ort und Stelle unbeweglich, viele in einer vertikalen Stellung zitternd. Nach einiger Zeit erholten sie sich und man sah sie am Rande sich ansammeln, wobei die dem Spalt zugekehrte Seite deutlich bevorzugt war. Auch hier sah man nach einiger Zeit im Innern der etwas aufgeblähten Stäbchen Körnchen hervortreten.

Schließlich war auch das Verhalten in 1proz. Glycerinlösung demjenigen in der Harnstofflösung ganz gleich. Hier sah man ebenso die Organismen sofort nach dem Übertragen in der Mitte des Tropfens schweben. Die Wirkung schien hier noch schädlicher als bei Harnstofflösung zu sein, denn die Organismen hatten sogar nicht mehr Kraft, an die geeignete Atmungsstelle im Tropfen zu gelangen, und sanken meistens in die Tiefe, so daß sie überhaupt schwer zu finden waren.

Es braucht nicht hervorgehoben zu werden, wie wenig die geschilderten Versuche zur Lösung der Plasmoptysefrage beibringen; sie bringen eigentlich nichts. Und doch ist mir eins bei ihrer Ausführung aufgefallen — das war das Verhalten der Vibrionen im Wasser selbst. Ich bemerkte, daß sie beim längeren Verbleiben in dem Wassertropfen im Uhrgläschen eine ausgesprochene Neigung zur Abrundung zeigten. Ich bewahrte daher die Aufschwemmungsflüssigkeit in einer feuchten Kammer längere Zeit und nun überzeugte ich mich, daß schon nach Verlauf von 24 Stunden eine ganz genane und allgemeine Abrundung eingetreten war. Das Bild (Taf. VI

Fig. 13) gibt einen Teil des Hängetrophenrandes mit der Reihe von nebeneinander liegenden Kügelchen wieder, deren einige auch die oft sichtbaren Körnchen aufweisen. Es muß ausdrücklich bemerkt werden, daß die Organismen bei ihrer Aufschwemmung nur Vibrionengestalten zeigten und daß außer den Kügelchen keine Gestalten mehr in dem Wassertropfen im Uhrgläschen zu finden waren, weder allein, noch mit den Kügelchen verbunden. Von Häuten, die sich im Wasser allerdings nicht aufgelöst hätten, war absolut nichts zu sehen.

Es ist mir auch gelungen, den Vorgang der Abrundung direkt zu beobachten unter Zuhilfenahme der NH_3 -Wirkung auf die im Wasser einige Stunden liegengebliebenen Vibrionen.

Es wurde mit der kleinen Öse eine Spur von dem Aufschwemmungsmaterial in einen Hängetrophen aus destilliertem Wasser übertragen. a_1 um b_1 (Taf. VI Fig. 14) stellen zwei Individuen dar, welche ich im Auge hatte, als der Spalt zwischen dem Deck- und Objektgläschen mit 0,2proz. NH_3 geschlossen war. Nach 10 Minuten hat sich b_1 etwas aufgebläht (b_2), während a sich träge verhielt. Es wurde die 0,2proz. NH_3 -Lösung durch 0,5proz. ersetzt und es dauerte nicht lange, als a_1 ruckweise zu a_2 wurde, und nach Verlauf von noch 15 Minuten kamen die einwandsfreien Abrundungsgestalten a_3 und b_3 zum Vorschein. Die Bilder geben zugleich Aufschluß darüber, auf welche Weise die über die Kugeloberfläche etwas herausragenden Körnchen, die berühmten „Beinchen“ entstehen.

Im Hängetrophen war in dieser Zeit die Abrundung ziemlich allgemein eingetreten. Der Beweis für die Abrundung von Vibrionen ist somit gebracht: sie tritt ein und zwar unter der Wirkung des absoluten Mangels von Nährstoffen. Höhere Temperatur, flüssige Umgebung und Nährstoffmangel — das sind die wichtigsten Momente, welche bei der Abrundung der Zellen von *Vibrio proteus* mitspielen.

Nicht nur reines Wasser (die Abrundung tritt ebenso im destillierten wie im Leitungswasser ein), sondern auch schwache Lösungen solcher Stoffe, die nicht sofort tödend auf den *Vibrio* wirken und ihn nur unvollständig ernähren, wie z. B. eine 1proz. Glyzerin- oder 1proz. Rohrzuckerlösung führen zu einer Abrundung der immer schwächer werdenden Organismen. Es lassen sich auch diese Flüssigkeiten in eine Reihe nach ihrem Ernährungswert ordnen, wobei der *Vibrio* um so länger seine normale Gestalt behält, je besser die entsprechende Lösung seinen Nährbedürfnissen entspricht. Im Hängetrophen läßt sich diese Wirkung nicht gut verfolgen, wohl aber, wenn man sich gleichzeitig Aufschwemmungen von demselben Agarmaterial in den

genannten Lösungen in Uhrgläsern darstellt und diese längere Zeit in einer feuchten Kammer aufbewahrt. Fig. 15 (Taf. VI) stellt dar den Rand des Hängetropfens vor der Aufschwemmung in 1proz. Glycerinlösung, welche gleichzeitig mit der obenerwähnten Wasser-aufschwemmung angelegt und untersucht wurde. Man sieht hier neben den vollständig abgerundeten Kugeln und ziemlich unverändert gebliebenen Stäbchen ovale Übergangsformen zwischen beiden. Die Zahl der letzten war in der Zuckeraufschwemmung noch größer mit gleichzeitiger Abnahme der Kugeln.

In allen diesen Versuchen war von der Plasmoptyse nichts zu sehen.

Es lag aber nahe, von den pessimalen Lebensbedingungen, wie sie ein Hängetropfen aus destilliertem Wasser darbietet, zu den optimalen — einer alkalischen Fleischwasserpeptonlösung, oder noch besser einer solchen mit etwas Zuckerzusatz überzugehen und das Verhalten der Organismen in den ihnen zusagenden Nährlösungen zu beobachten. Es wurde wieder eine Aufschwemmung von dem Agarmaterial, das in gewünschtem Entwicklungsstadium sich befand, in etwas Wasser gemacht und von hier in die entsprechenden Hängetropfen mit der kleinen Öse eine Spur übertragen. Die Organismen, welche im Wasser ihre Beweglichkeit bald einbüßen und mehr Stäbchen- als Vibrionenform aufweisen, nehmen unter der Wirkung des guten Nährmediums ihre normale Vibrionenform bald an. Schlank und deutlich gekrümmt erscheinen sie am Rande, wo sie sich oft zu Reihen senkrecht zur Krümmungslinie des Tropfenrandes ordnen und entweder an einer Stelle sich bewegen, oder in der ganzen Schar dem Tropfenrande entlang herumschwimmen. Viele treiben lebhaft umher, einzeln oder zu kleinen radialen Haufen — offenbar durch die gegenseitige Geißelverflechtung — vereinigt. Lange dauert die rege Bewegung im Tropfen. Nach 2, selbst nach 3 Stunden wird man fast nur diese Gestalten, die sich inzwischen reichlich vermehrt haben, sehen. Aber hier und da bemerkt man im Gedränge der Vibrionen und Vibrionenkettchen Kügelchen, die in ihrer Beweglichkeit ihren normalgestalteten Gefährten gar nicht nachstehen; ins Freie gelangt, verschwinden sie ebenso rasch wie jene aus dem Gesichtsfelde. Wenn es aber gelingt, die eine oder die andere genauer anzusehen, so bemerkt man, daß jede von ihnen einen Anhängsel mit sich schleppt — eben das herabhängende „Häutchen“ des einzelnen Vibrions oder eines noch nicht geteilten Pärchens.

Wird die Beobachtung in der rechten Zeit nach dem Anlegen

des Hängetropfens vorgenommen, so gelingt es zuweilen, die Plasmoptyse an einer großen Individuenzahl zu beobachten. In meinen Versuchen begann sie gewöhnlich nach Verlauf von $2\frac{1}{2}$ —3 Stunden und war etwa 2 Stunden später zum größten Teil eingetreten. Nach dieser Zeit lagen allerdings die plasmoptierten Vibrionen schon meistens ruhig. Die Mehrzahl plasmoptiert in der Bewegung — bei diesen ist es unmöglich, die nacheinander folgenden Stadien des Vorganges zu notieren. Mit Leichtigkeit kann man es aber bei den ruhig an einer Stelle verbleibenden vornehmen.

Die Plasmoptyse spielt sich ganz so, wie schon oben beschrieben wurde: ein außerhalb des Bakterienleibes erschienenes Knöpfchen (*a*) (Taf. VI Fig. 16) schwillt langsam zu einem winzigen Kügelchen (*b*), welches weiter sich zu einer Kugel (*c*), deren Durchmesser um das vielfache die Stäbchendicke übertrifft, ausbildet. Zwischen *a* und *b* verflossen 10 Minuten, *c* entstand noch nach Verlauf von 15 Minuten. Der ganze Vorgang nahm somit ca. $\frac{1}{2}$ Stunde in Anspruch. Das Bild im Hängetropfen nach dem Eintritt der Plasmoptyse ist überaus charakteristisch: man sieht die geometrisch runden kleineren und größeren Kügelchen mit ihren meist etwas gekrümmten, zuweilen ganz dünnen Anhängseln, zusammen mit den nicht plasmoptierten Individuen im dichten Gedränge längs des Tropfenraudes liegen; hier und da trifft sich ein längeres Stäbchen mit zwei Kügelchen je an einem Ende, sehr selten sind die Formen mit zwei kurzen Anhängseln an einer Kugel (Taf. VI Fig. 17).

Außer diesen Gestalten sieht man keine anderen, weder lose liegende Kugeln, noch ellipsoidale Aufblähungsformen.

Macht man sich aus dem plasmoptierten Material ein gefärbtes Präparat, so sieht man, daß die Kügelchen viel intensiver färbbar sind, als die an ihnen hängenden Häutchen.

Auf die geschilderte Weise erhielt ich die Plasmoptyse immer am deutlichsten, und zwar allgemein in einer Fleischwasserpeptonlösung mit 1 Proz. Zuckerzusatz besser, als ohne diesen.

Zu bemerken ist, daß der Hängetropfen nach dem Eintritt der Plasmoptyse eine ganz deutliche alkalische Reaktion besaß. — Keiu einziges Mal konnte ich die Abtrennung des anhängenden Häutchens vom ausgepreßten Plasmatröpfchen bemerken.

Professor ALFRED FISCHER schreibt zwar¹⁾: „Von den Plasmoptysekugeln werden später bei anhaltenden Bewegungen die leeren Hantreste abgestreift“, gesehen aber hat Professor ALFRED FISCHER

¹⁾ Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. XXIV S. 58.

dieses „Abstreifen“ wohl nicht. Es war nötig, die in so großer Zahl in den flüssigen Kulturen erscheinenden Kügeln „mit ein oder zwei Beinchen“ irgendwie mit den viel selteneren wahren Plasmoptysegestalten zu verbinden, und so ist die Geschichte über das „Abstreifen leerer Hautreste“ entstanden. Ja, Professor ALFRED FISCHER bringt sogar einen Beweis für die Richtigkeit seiner Vermutungen, welcher lautet: „Wie der leere Würstdarm länger ist als die Würst, sind auch die leeren Vibrionenhäute länger als der Vibrio“. „Man findet — nach Professor ALFRED FISCHER — in Kulturen gewissen Alters (20 bis 24 Stunden) oft größere Mengen leerer Hautsäcke.“ Ich habe die zuletzt beschriebenen Plasmoptysegestalten, die noch lange (1 bis 2 Stunden) gut beweglich waren, bis zu ihrer endgültigen Sistierung unaufhörlich beobachtet und ohne eine einzige Ausnahme die Kügelchen mit ihren Häntchen in stetiger Verbindung gesehen. Daun habe ich öfters nach den „Hautsäcken“ in Kulturen verschiedenen Alters gesucht und bin überzeugt, daß das, was Professor ALFRED FISCHER für entleerte *Vibrionenhäute* nahm, nichts anderes, als degenerierte, verunstaltete Vibrionen waren. Bei Beschreibung der Entwicklung von *Vibrio proteus* in Heuinfuskulturen habe ich schon bemerkt, daß man in älteren Kulturen hauptsächlich zwei Gestalten, ruhig liegende Kügelchen und dünne schwach gewundene Vibrionen, die fast Stäbchenform besitzen, findet. Durch die letzten wurde wahrscheinlich Professor ALFRED FISCHER irreführt.

Auf Grund aller dargelegten Beobachtungen bin ich wohl berechtigt, die Ansicht von Professor ALFRED FISCHER, daß die in einer flüssigen Kultur von *Vibrio proteus* auftretenden anhangslosen kugeligen Gestalten mit den oben beschriebenen Plasmoptysegebilden in irgend welchem genetischen Verhältnis ständen, als unrichtig aufzufassen. Professor ALFRED FISCHER hat zwei nebeneinander verlaufende und voneinander unabhängige Vorgänge in einen größeren gemeinschaftlichen Zyklus verbunden, welcher de facto nicht existiert.

Es bleibt noch übrig, die Versuche über die Wiederbelebung des durch Plasmoptyse, resp. Abrundung deformierten Materials zu erwähnen. Die durch längeres Liegen im Wasser abgerundeten Gestalten zogen beim Übertragen in einen Hängetropfen aus Zuckerbouillon ihren Inhalt mondförmig an eine Seite der Kugel zusammen (Taf. VI Fig. 18), bekamen ein mehr gekörnelttes Aussehen, zeigten aber sonst keine Lebenserscheinungen.

Die Plasmoptysekügeln, soweit sie schon zur Ruhe gekommen waren, zeigten beim Übertragen in eine frische Nährlösung auch

keine Lebenserscheinungen mehr, die beweglichen konnte man noch einige Zeit umherschwimmen sehen, wobei die Anhängsel immer kleiner und dünner wurden, zur „Abstreifung“ aber nie gelangten (Taf. VI Fig. 19): schließlich werden sie auch sistiert, um scheinbar definitiv vom Leben Abschied zu nehmen.

IV. Theoretisches.

Vergleicht man die Bedingungen, unter welchen die Plasmoptyse zustande kommt, mit denjenigen, welche zur Abrundung der Zellen von *Vibrio proteus* führen, so sieht man den diametralen Unterschied zwischen diesen beiden Erscheinungen. Die Abrundung in ihrer vollkommensten Art, wie sie in Wasser eintritt, ist das Zeichen einer Ohnmacht der durch Mangel von Endosmose von Nährstoffen und wahrscheinlich durch gesteigerte Exosmose erschöpften Zelle. Das Auftreten der Körnchen im Bakterienleibe scheint damit im Zusammenhange zu stehen: es können sich anhäufende Niederschläge gewisser Stoffe sein, die in dem ausgelaugten Zellinhalte nicht mehr in Lösung erhalten werden können. Die Membran verliert ihre Elastizität, sie wird auch gewaltig durch den gesteigerten osmotischen Druck im Inneren der Zelle aufgetrieben, schließlich ist sie nicht mehr imstande, Widerstand zu leisten und wird vollständig deformiert; sie wird zu einer gewöhnlichen Blase. In der Form einer Kugel kann der *Vibrio* eventuell noch einige Zeit am Leben bleiben, wenn diese Umgestaltung nicht so brutal, wie das im Wasser der Fall ist, sondern allmählich in einer langsam sich erschöpfenden Nährlösung zutage tritt; er ist aber schon dem Tode, sozusagen, prädestiniert: eine in Teilung begriffene vollständig abgerundete Kugel habe ich nicht gesehen. — Anders die Plasmoptyse. Sie tritt nur bei Individuen ein, die eben in den optimalen Lebensbedingungen sich befanden. In die mit voller Energie sich abspielenden Lebenserscheinungen der Zellen greift irgend ein störender Umstand ein. Was es ist — darüber kann man einstweilen nur Vermutungen aussprechen: es kann der plötzliche Mangel eines wichtigen Nährstoffs, wie z. B. des Zuckers oder einer anderen Verbindung sein, ebenso gut kann es auch die Anhäufung eines oder mehrerer aus der Bakterie ausgeschiedenen oder in ihr sich sammelnden Umsetzungsstoffe sein; die Säure an und für sich ist es allerdings nicht, denn die Plasmoptyse findet auch in einer alkalischen Lösung statt. Nun tritt der Inhalt der Zelle (wahrscheinlich nur teilweise) nach außen und die rege Beweglichkeit des plasmoptierten Individuums bezeugt

am besten, daß das Zustandekommen der Plasmoptyse ein momentaner Sieg des Organismus im Kampfe ums Dasein ist. Wie mit neuen Kräften ausgestattet sucht sich die Zelle eifrig zusagende Existenzbedingungen ans. Sie ist aber durch die schwere Operation so geschwächt und auch verunstaltet, daß selbst die günstigsten Lebensbedingungen, die ihren nichtoperierten Genossen alle Lebensfreuden von neuem darbieten, sie nicht mehr zu retten imstande sind: sie ist nnteilbar und verschwindet ohne Nachkommenschaft aus ihrer Hängetropfenwelt. Eine Frage drängt sich schon lange auf: Wie kommt es, daß nicht der ganze Inhalt eines Probierröhrchens, daß nicht alle Individuen gleichzeitig eine bestimmte Entwicklungsform annehmen, sondern daß man in einem gewissen Zeitpunkt die verschiedensten Gestalten miteinander vermischt findet?

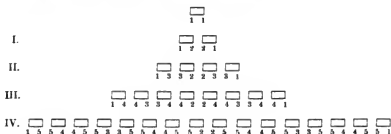
Die Ursachen dieser Erscheinung sind zweierlei Art: sie liegen erstens außerhalb der Organismen, in ihrem Kulturmedium, und zweitens — in den Organismen selbst, in dem jeweiligen Zustand der Zelle, welcher durch die Summe aller in ihrem bisherigen Leben mitwirkenden Lebensbedingungen bestimmt ist und seinerseits die Lebenserscheinungen des nächsten Zeitmoments bedingt.

Eine Flüssigkeit, soweit sie keine Trübung und keinen Niederschlag besitzt, stellt anfangs ein vollständig homogenes Medium dar. Schon aber beim Einstellen des Röhrchens in den Brutschrank wirkt die Wärmeausbreitung differenzierend auf den Inhalt, in welchem eine bewegliche Bakterienart sich nach allen Richtungen hin gleichförmig verteilt hat. Die Temperaturunterschiede gleichen sich aber in dem kleinen Probierröhrchen bald aus; die beweglichen Organismen tragen dazu nicht unbedeutend bei. Es vermehren sich nun die an das neue Medium angepaßten Organismen lebhaft und es wird allmählich der Vorrat an den verschiedenen Nährsubstanzen der Lösung verbrannt. Sehr deutlich tritt bei *Vibrio proteus* in einem gewissen Entwicklungsstadium der Mangel an Sauerstoff auf: die Organismen sammeln sich an der Oberfläche zu einer dünnen Kahmhaut und sperren den Zutritt der „Lebensluft“ zu den anderen ab. Bald entsteht auch ein Bodensatz aus den heruntersinkenden, meist abgerundeten, absterbenden Zellen, und so ist das Nährmedium ganz ungleichartig geworden.

Etwas näher sei das zweite Moment, der Entwicklungsgang der Organismen selbst, die „inneren“ Ursachen ihrer Verschiedenheit in einem gegebenen Zeitmoment besprochen.

Eine durch Zweiteilung sich vermehrende Zelle erzeugt, wie leicht zu berechnen, nach n -Teilungen 2^n -Zellen.

Ist diese ganze Nachkommenschaft untereinander gleich, oder lassen sich „ältere und jüngere“ Individuen unterscheiden? — eine Frage, die bis jetzt in der Bakteriologie stillschweigend umgangen wurde, gleichwohl sie sich rein mathematisch beantworten läßt. Wir wollen eine Zelle in ihrer Teilung verfolgen.



Nach Eintritt der IV. Teilung können wir folgende Zellen unterscheiden:

- a) 8 Zellen 4,5
- b) 4 „ 3,5
- c) 2 „ 2,5
- d) 2 „ 1,5

Ihre Summe stellt die Gesamtheit der momentan vorhandenen Zellen dar, somit

$$2^4 = 2 + 2 + 4 + 8 = 2 + 2^1 + 2^2 + 2^3.$$

Nach Eintritt der folgenden Teilung wird die Gesamtzahl

$$2^5 = 2 + 2^1 + 2^2 + 2^3 + 2^4 \text{ usw.}$$

Nach Eintritt der n -ten Teilung haben wir

$$2^n = 2 + 2^1 + 2^2 + \dots + 2^{n-1})$$

Die in der Reihe IV befindlichen 16 Zellen — die Nachkommenschaft der Zelle 1,1 — können nicht als vollständig gleichartig be-

¹⁾ Algebraisch dargestellt bekommt der Ausdruck die Form:

$$a^n = a + a^1 + a^2 + \dots + a^{n-1}$$

Diese Formel ist richtig nur für den Spezialfall, wenn $a = 2$ ist. Für beliebige Werte von a gilt die allgemeine Formel:

$$a^n = a + (a-1)a + (a-1)a^2 + (a-1)a^3 + \dots + (a-1)a^{n-1}.$$

Ist $a = 2$, so geht diese Formel in die obige über. Offenbar stellt die letzte allgemeine Formel den Zustand nach der n -ten Teilung von a -Zellen, welche sämtlich gleichmäßig sich geteilt haben.

trachtet werden. Obwohl jede von ihnen aus der Reihe III durch Einlegung einer neuen Wand 5 entstanden ist, so können wir die zwei Zellen 1,5, deren Ende 1 noch an die Uurgroßmutter 1,1 erinnert, schwer mit den jüngst entstandenen 4,5 auf die gleiche Stufe stellen. Wenn man den Unterschied, welcher durch die verschiedenen alten Abgrenzungswände der Zellen verursacht wird, anerkennt, dann bekommt der allgemeine Ausdruck

$$a^n = a + (a-1)a + (a-1)a^2 + \dots (a-1)a^{n-1}$$

eine tiefere Bedeutung dadurch, daß er die Gesamtheit der aus a -Zellen nach n -Teilungen entstandenen Individuen als Summe der Organismen „verschiedenen Alters“ ¹⁾ darstellt.

Ob diese „Altersunterschiede“ auch nicht in den Formveränderungen von *Vibrio proteus*, wie Plasmoptyse, trompetenartige Erweiterung eines Endes usw., mit eine Rolle spielen, das läßt sich natürlich nicht direkt beweisen, aber wohl vermuten.

Vibrio aus der Jauche.

In der Erscheinung der Plasmoptyse steht *Vibrio proteus* gar nicht vereinzelt da. Gelegentlich konnte ich diesen Vorgang an einem in der Jauche sich entwickelnden *Vibrio* aufs deutlichste beobachten. Der Organismus konnte leider weder identifiziert, noch isoliert werden, da er auf den Gelatine-, Jauchengelatine- und Jauch agarplatten nicht zur Entwicklung kam und auch in seinem ursprünglichen Entwicklungsort bald verging. Merkwürdig rasch vermehrte er sich in einer Jauchenprobe, die schon einige Tage im Laboratoriumszimmer gestanden hat. Nach dem plötzlichen Erscheinen verging er aber auch ebenso geschwind. Am dritten Tage, nachdem ich ihn bemerkt habe, war er schon so geschwächt, daß das Experimentieren mit ihm zu keinen Resultaten mehr führte. So lange ich ihn in der Hand hatte, konnte ich feststellen, daß in diesem Falle die Plasmoptyse auf rein osmotischem Wege zustande kam: beim Übertragen einer Spur von der Jauchenoberfläche (der Organismus war deutlich *aërophil*) in einen Wasserhängetropfen trat die Plasmoptyse sofort und allgemein ein. Die Vibriokettchen (der *Vibrio* kam nur

¹⁾ Daß diese Anseinandersetzung nur eine grobe Schematisierung des Zellteilungsvorganges bei den Bakterien ist, ist ja einleuchtend. Der Bakterienleib, wie jede lebendige Zelle, bleibt nicht einen Moment unverändert; wenn ich daher von einem „älteren Ende“ der Bakterienzelle spreche, so ist es nichts anderes, als bloß ein Hilfsbegriff zur Schilderung der Möglichkeit innerer Verschiedenheiten zwischen den Organismen einer Kultur.

in Ketten vor) schieden entweder an den Enden, oder — viel öfter — in der Mitte seitlich Kügelchen aus, die sie dann in ihren regen Bewegungen mitschleppten (Taf. VI Fig. 20). Das Kügelchen wurde immer in der Einzahl ausgeschieden, so daß man es als eine Ausscheidung des ganzen Kettchens ansehen muß. Wurde der Organismus von der Jauche in eine $\frac{1}{4}$ proz. NaCl-Lösung übergetragen, so war keine Spur der Plasmoptyse zu sehen; er behielt dabei auch seine volle Beweglichkeit bei.

Es wurden Versuche angestellt, um den Verdünnungsgrad der Jauche zu bestimmen, bei welchem die Plasmoptyse zustande kommt. Mit den mit 0.1 cm-Teilungen versehenen Pipetten wurde zuerst die Jauche und darauf destilliertes Wasser in Uhrgläschen znsammengebracht und nach dem Vermischen mikroskopisch geprüft. Das Ergebnis war, daß erst bei der Verdünnung von 1 (Jauche) zu 4 (H_2O) eine deutliche, fast allgemeine Plasmoptyse entstand. Bei der Verdünnung 1:1 fand sie gar nicht statt, bei 1:2 trat sie nur vereinzelt ein. Die Verdünnungen von 1:4 bis 1:7 führten sofort zur Plasmoptyse, beeinträchtigten aber die Beweglichkeit der plasmoptisierten Zellen anfangs nicht; erst nach Verlauf von $\frac{1}{2}$ —1 Stunde konnte man eine Ermüdung derselben wahrnehmen. Von der Verdünnung 1:8 an sah man immer mehr unbewegliche Zellen, und bei 1:10 war die Mehrzahl sofort unbeweglich. Die höheren Verdünnungen bis 1:40 brachten keine Änderung mehr in die Erscheinungen.

Stärkere Konzentrationen von NaCl wirkten auf den *Vibrio*, wie gewöhnlich, plasmolisierend ein.

Die Versuche mit der Wirkung der Essigsäure und NH_3 -Dämpfe durch den Spalt führten zu keinen positiven Resultaten.

Die Reaktion der Jauche selbst war stark alkalisch.

Man konnte auch hier den Vorgang der Plasmoptyse unter dem Mikroskop unmittelbar verfolgen. Der Organismus war so groß, daß man ihn ganz gut mit einem Trockensystem (LEITZ-Objektiv E) beobachten konnte. Es wurde nun eine BÜTTCHER'sche feuchte Kammer angelegt und das Wasser in ihr über einer kleinen Flamme gelinde angewärmt, um es zu einer intensiveren Verdampfung zu bringen. Nach dem Auflegen des Deckgläschens mit dem Untersuchungsmaterial wurde die Beobachtung sofort vorgenommen. Es gelang nun zu sehen, wie in dem zerfließenden Jauchenhängetröpfchen an den Vibrionenketten winzige Kügelchen entstanden und rasch heranwuchsen.

Wie bemerkt, fing der *Vibrio* sehr rasch an in der Jauche zu

degenerieren: er wurde unbeweglich, erschien immer weniger zahlreich, plasmoptierte nicht mehr so regelmäßig, so daß die Versuche abgebrochen werden mußten.

Spirillum volutans.

Zu den plasmoptierenden Organismen gehört auch *Spirillum volutans*, nur erfolgt hier die Plasmoptyse auf andere Weise, als bei den Vibrionen.

Untersucht man eine ältere Agarkultur von diesem *Spirillum*, so bemerkt man viele kleine ovale, zuweilen fast kugelförmige, zum Teil bewegliche Formen, die in ihrem äußeren Aussehen gar nicht an die *Spirillum*-Gestalt, eher an eine Monadine erinnern. In der gewöhnlichen Fleischwasserpeptonlösung entwickelt sich *Spirillum volutans* in seiner normalen Gestalt. Dieselben Gestalten erscheinen auch auf der Agaroberfläche der nicht veralteten Strichkulturen. Überimpft man von einer solchen gut entwickelten frisch angelegten Kultur in ein Röhrchen, welches Fleischwasserpeptonlösung mit Zusatz von 1 ccm einer 1proz. NH_3 -Lösung enthält, so kann man nach etwa 16 Stunden Züchtung bei 32° die verschiedenen „Involutionsgestalten“ vom genannten *Spirillum* beobachten: längliche unregelmäßig gekrümmte, spindelförmig verdickte mit Krümmungen, gerade stäbchenförmige, kleine ovale bis zu fast runden und noch kleinere bazillenförmige Zellen schwimmen im Tropfen umher (Taf. VI Fig. 21).²⁴ Zuweilen hält die eine oder die andere auf, verbleibt einige Minuten an der Stelle, von Zeit zu Zeit aufzitternd, als ob sie sich anstrengte, sich frei zu machen, könne es aber nicht; auf einmal wird sie frei und schwimmt weiter fort. Betrachtet man eine solche angeheftete und aufzitternde Zelle genauer, so sieht man, daß sie in der Tat am Deckgläschen mit ihrem Ende festhaftet und zwar durch das von ihrem eigenen Leibe sich ausscheidende Protoplasma, welches körnige Fleckchen am Deckgläschen bildet. Zwei in Teilung begriffene Zellen scheiden ihren Inhalt an den freien Enden aus, eine freie Zelle scheidet ihn nur an einem Ende, wahrscheinlich dem älteren aus (Taf. VI Fig. 22).

Nach Verlauf von noch etwa 6 Stunden warmer Züchtung findet man die Zahl der größeren Gestalten bedeutend vermindert und sieht an ihrer Stelle viele dünne verkümmerte Formen auftreten. Einige von ihnen sind ganz „fadendün“ geworden bei Behaltung ihrer Länge; sie sehen wie entleert aus, ohne den bei Spirillen üblichen Körnerinhalt. Ebenso transparent sind die verkleinerten

stäbchenartigen Gestalten, während die ovalen und kugelförmigen einen körnigen Inhalt noch erkennen lassen. Die Plasmoptyse dauert fort: man kann an den einzelnen Organismen ganze Protoplasmafäden anhaften sehen; hier und da liegen solche Plasmastränge am Deckgläschen allein in Begleitung der körnigen Ausscheidungen (Taf. VI Fig. 23). Jetzt sind auch beiderseits plasmoptierende Individuen zu sehen.

Bei größerem NH_3 -Gehalt wird die Beweglichkeit der Zellen schon sehr beeinträchtigt, es kommen auch keine großen Individuen mehr zur Entwicklung (z. B. bei Zusatz von 1 ccm einer 3proz. Lösung), so daß auch die Plasmaausscheidung nicht mehr so deutlich zutage tritt. Die Erscheinung der Plasmoptyse im Hängetropfen kann man etwas beschleunigen und verdeutlichen, wenn man die Beobachtung mit dem Spalt einsetzt und denselben z. B. mit 2 Proz. NH_3 verschließt.

Die Plasmoptyse tritt nicht nur in einer NH_3 -haltigen, sondern auch in einer mit Essigsäure angesäuerten Lösung ein. Der Organismus entwickelt sich in dem sauren Nährmedium sehr spärlich, aber es gelingt auch hier sehr deutlich die Plasmaausscheidung zu beobachten. Nur sind in diesem Falle die Individuen viel gleichmäßiger gebaut; ich fand keine aufgeblähte Formen, nur die geraden oder etwas gekrümmten Stäbchen von gleichmäßiger Dicke.

Etwas stärkere Säurekonzentrationen wirken tödlich.

Vieles wäre hier noch zu ermitteln, so z. B. das Verhalten der Geißeln bei den plasmoptierenden Individuen, welche vor wie nach beweglich bleiben, die Regenerierung der wie „entleerte Hautsäcke“ ansiehenden verkümmerten Organismen zu normalen Spirillen usw. usw.

Glaucoma colpidium.

Nachdem die verschiedene Wirkung gewisser chemischer Veränderungen im Nährsubstrat auf einige Repräsentanten derjenigen Organismen, welche in die Gruppe der Bakterien eingereiht werden, festgestellt war, wurde nach ähnlichen Erscheinungen in den anderen Gruppen der einfachsten Lebewesen gefahndet.

Zuerst kam das Infusor *Glaucoma colpidium* (SCHEW.) zur Untersuchung.

Die Aufgabe bestand in der unmittelbaren Beobachtung der Wirkung entsprechender Substanzen vom ersten Moment an, wo die Zelle mit ihnen in Berührung kam bis eventuell zum Tode derselben. Dementsprechend wurden als Agentien die verhältnismäßig leicht

verdampfenden Substanzen, wie Ammoniak, Trimethylamin, Anilin, Essigsäure, Alkohol, Formaldehyd, Äther, Chloroform, Phenol und Jod angewandt — alle in entsprechend verdünnten wässerigen Lösungen. Die Versuchsanordnung war die bekannte mit der Wirkung des Agens durch den Spalt. Was zunächst die Wirkung der basischen Stoffe, wie Ammoniak, Trimethylamin und Anilin anbelangt, so äußerte sie sich auf die gleiche Weise: die mehr oder weniger eiförmige Gestalt des Infusors blähte sich allmählich auf, was — besonders bei den kleineren jüngeren Individuen — oft fast bis zur Kugelform führte; an den größeren erschienen bald an der Oberfläche blasige Ausstülpungen, welche zuweilen eine völlige Deformation der Organismengestalt zur Folge hatten (Taf. VI Fig. 24). Wenn das entsprechende Agens nicht zu stark konzentriert war — 0,02 bis 0,04 proz. NH_3 -Lösung, 0,01 bis 0,02 proz. $\text{N}(\text{CH}_3)_3$ - und 0,2 bis 0,5 gesättigte Anilininlösung —, so ging die Wirkung ganz langsam vor sich: man konnte sehen, daß sie hauptsächlich in der Vergrößerung der Vakuole resp. in der Entstehung neuer Vakuolen an verschiedenen Körperstellen besteht.

Die deformierten Zellen waren anfangs sehr gut beweglich und ließen sich auch in der Regel zu ihrer früheren normalen Gestalt regenerieren, wenn man rechtzeitig die entsprechende Lösung im Spalt durch Wasser ersetzte und die Manipulation zur Ausziehung des Agens aus dem Hängetropfen einige Male wiederholte. Diese Belebungsweise hat sich erfolgreicher erwiesen, als das Neutralisieren des alkalischen Mittels, z. B. durch verdünnte Essigsäuredämpfe.

Die Vakuolen und die durch sie verursachten Ausstülpungen wurden allmählich eingezogen, die Zellen, wenn sie durch längere Wirkung des betreffenden Stoffes unbeweglich geworden waren, gewannen ihre normale Beweglichkeit wieder. Bei allzuweit fortgeschrittener Deformation gelang die Wiederbelebung nicht immer. In einigen Fällen, z. B. bei der Wiederbelebung der durch Wirkung der Anilindämpfe deformierten Organismen konnte man sehen, wie sich der gesunde Teil der Zelle von der blasigen Ausstülpung allmählich abgrenzte. Zuerst sah man an dieser Stelle das Protoplasma körniger werden, schließlich bildete sich eine neue Pelliculawand aus (Taf. VI Fig. 25).

Rascher erfolgte die Heilung der durch Alkoholwirkung (10 Proz.) angegriffenen Zellen und konnte daher genauer beobachtet werden. Die durch Alkohol verursachten Deformationen waren denjenigen, welche unter dem Einfluß der alkalischen Agentien entstanden, ähnlich, nur schien hier die Vakuolendilatation nicht so weit zu gehen.

a_1 und b_1 (Taf. VI Fig. 26) stellen die Formen von drei Zellen nach 10 Minuten Wirkung der Dämpfe einer 10proz. Alkohollösung dar.

Die Individuen sind unbeweglich geworden und zeigten überhaupt keine Lebenserscheinungen mehr; ihre „Pulszahl“¹⁾ ist $= \infty$ geworden. Es wurde nun der Alkohol durch Wasser ersetzt. Schon nach Verlauf von 15 Minuten nach mehrmaliger Auswechselung des Wassers im Spalt konnte man bei den Zellen Bewegungsanstrengungen wahrnehmen. Man sah, wie die Pellicula bei der durchsichtigen blasigen Ausstülpung sich allmählich einzog, so daß die Verbindungsbrücke mit dem aufgeblähten Zellenteil immer kleiner war (a_2 , b_2). Gleichzeitig konnte man bemerken, daß die Cytostomwimpern in Tätigkeit traten und die Vakuole zu pulsieren anfang. Das Pulsieren der Vakuole war zuerst unregelmäßig. In a z. B. habe ich bei der Belebung zwei pulsierende Vakuolen auftreten gesehen, eine größere von größerer und eine geringere von kleinerer Schlagsdauer.²⁾ Während einer Diastoleperiode der größeren schlug die kleinere fünfmal. Schließlich kamen beide in einer gemeinsamen Diastole in Berührung und verschmolzen zusammen; die Pulsierungsfrequenz ist — grob geschätzt — die der größeren geblieben. Ihre Pulszahl habe ich vor und nach der Verschmelzung nicht gezählt. a_2 und b_2 stellen den Zustand der Zellen in diesem Stadium dar. Nach Verlauf von noch 10 Minuten macht a durch eine drehende Bewegung den definitiven Versuch, sich von der Blase zu befreien, was ihr auch vollkommen gelingt und wir sehen das abgestreifte Bläschen neben der in einer veränderten Lage sich befindenden Zelle liegen (a_3), während die stärker angegriffene Zelle b weiter arbeitet, um auch ihrerseits den nicht mehr zu heilenden Teil abzustoßen; mit ihm wird auch ein Teil des körnigen Zellinhaltes entfernt (b_3). Jetzt erreichen die Zellen langsam ihre normale Gestalt und Beweglichkeit zurück. Nach einer halben Stunde sieht man sie schon Schwimmversuche anstellen — zuerst auf kleinere Entfernungen ruckweise, aber nach Verlauf von drei Stunden ändert sich das Leben in den normal-gestalteten Zellen auf normale Weise wieder (Taf. VI Fig. 27). Die Wirkung geringer Konzentrationen von Essigsäure (0,05—0,1 Proz.) äußerte sich ebenfalls zuerst in einer Anfböhlung der *Glaucomazellen*; eine Auftreibung der Vakuole wurde dabei nicht bemerkt. Während der mnnhigen beschleunigten Bewegung im Anfange der

¹⁾ „Untersuchungen über die kontraktile Vakuole und die Wabenstruktur des Protoplasmas“ von ALBERT DEGEN. Bot. Ztg. 1905 S. 163.

²⁾ Vgl. die zitierte Arbeit S. 173.

Säurewirkung konnte man zuweilen Ausstoßung kleiner Blasen durch die Cytostomöffnung sehen. Allmählich erlosch die Wimperbewegung, die Zelle wurde sistiert und wenn die Säurewirkung nicht sofort aufgehoben wurde, blieb sie schon tot. Durch die fixierende Wirkung der Säure hob sich der Kern hervor, die gestäubten Wimpern wurden gut sichtbar und so verblieb die Zelle mit deutlichen Konturen, bis sie an einer gewissen Stelle platzte und der gänzlichen Zerstörung anheimfiel (Taf. VI Fig. 28).

Anders erfolgte die Tötung durch Wirkung größerer NH_3 -Konzentration. Die betäubte Zelle bleibt an der Stelle und verliert auf einmal ihre innere Struktur, indem sie sich vollständig zu einer Kugel abrundet¹⁾ und innerlich zusammenfließt. In der Kugel kann man das Zittern der aus ihrer organischen Lagerung befreiten Körnchen sehen. Bald hält die geschwächte Wand der Blase den Druck von innen nicht mehr aus, sie platzt und ergießt sich in eine Anzahl kleiner Bläschen, die ihrerseits nacheinander wieder platzen und es bleibt nur ein Haufen Körner an der Stelle, wo sich die Zelle befand (Taf. VI Fig. 29). Nach einiger Zeit werden auch diese Überbleibsel durch die alkalische Flüssigkeit des Hängetropfens gelöst — und der Organismus ist „spurlos“ verschwunden. Jod- und Formaldehydlösungen wirken so stark, daß die Zellen meist direkt zerstört werden, ohne ihre Gestalt vorher deutlich zu ändern. Die Vakuole und ihre Tätigkeit wurde bei diesen Versuchen außer Acht gelassen. Merkwürdig ist, daß die Wirkung sich nicht auf gleiche Weise bei allen Organismen äußert: die größeren älteren scheinen auf diese beiden Agentien empfindlicher zu sein, als die kleineren jüngeren. So z. B. nach 10 bis 15 Minuten Wirkung einer halbgesättigten wässerigen Jodlösung (entspricht ca. 0,015proz. J) werden die großen Zellen meistens sistiert, während die kleineren unter Beibehaltung ihrer normalen Gestalten sehr lebhaft meist in den höheren Regionen des mittleren Teils des Tropfens umherschwimmen. Wenn eine in der Eile in die gefährliche Zone am Rande gelangt, so platzt sie plötzlich explosionsartig, sich in Kügelchen ergießend, welche auch bald verschwinden. Eine ähnliche Wirkung zeigte eine 0,05proz. Formalinlösung (entspricht 0,02proz. CH_2O). Das Zer-

¹⁾ Diese Kugelbildung erinnert in gewisser Beziehung an die Abrundung von *Vibrio proteus* unter dem Einfluß absoluten Nahrungsmangels in flüssiger Umgebung. Die Kügelchen von *Vibrio* sind aber im Vergleich mit den nur kurz sich erhaltenden *Glaucosakugeln* viel fester und dauerhafter, was nicht zu verwundern ist, wenn man ihre starre Hülle, deren die letzten entbehren, in Betracht nimmt.

störungsbild der Zelle, wie es bei höheren Konzentrationen des Agens entsteht, stellt Fig. 30 (Taf. VI) dar. Es bleibt nach der Zelle ein Gerüst mit den gesträubten Wimpern übrig; der flüssige Inhalt ergießt sich in Blasen, die nacheinander bersten; bei *a* ist noch die letzte geblieben.

Nicht so charakteristisch und auch viel schwächer war die Wirkung einer gesättigten wässrigen Chloroformlösung, einer 5proz. Ätherlösung und 0,2proz. Phenollösung. Die Wirkung dieser Agentien in den angegebenen Konzentrationen äußerte sich hauptsächlich in den verschiedenen Bewegungsänderungen. So z. B. verursachte Chloroform eine kegelförmig drehende Bewegung der Zelle unter öfterem Umkippen des ganzen Körpers¹⁾; eine drehende Bewegung schien auch Phenol zu verursachen, während die Wirkung des Äthers hauptsächlich eine lähmende war.

Vorticella.

Da durch Ammoniak sich verhältnismäßig die größten Gestaltsänderungen an der lebenden *Glaucoma*-Zelle hervorbringen ließen, wurde bei der *Vorticella* die Hauptaufmerksamkeit auf die Wirkung dieses Agens gelenkt. Als Gegenteil kam Essigsäure zur Anwendung.

Im allgemeinen ist *Vorticella* ebenso für NH_3 wie für Essigsäure weniger empfindlich als *Glaucoma colpidium*. Die morphologischen Veränderungen sind denjenigen bei *Glaucoma* im Grunde ähnlich. Nach 10 bis 15 Minuten Wirkung einer 0,05 bis 0,1proz. NH_3 -Lösung bemerkt man ebenso das Heranwachsen der Vakuole, welche zu pulsieren aufhört, im Zellinnern, dann das Entstehen von Blasen am Peristomfeld, welches selbst auch blasenförmig angetrieben wird. Jetzt kommen auch die Wimpern zum Stillstand und die Zelle schwillt in ihrem ganzen Körper, ganz bedeutend am unteren kegelförmig zugespitzten Teil, welcher bauchförmig erweitert wird (Taf. VI Fig. 31). Die dem Tode schon nahe stehende Zelle rollt ihren Stiel langsam ein, um ihn nach dem Tode wieder zu entrollen; die mittlere kontraktile Faser erscheint dann in Stücke zerrissen, was beweist, daß ihr Absterben in der „Kontraktionsphase“²⁾ erfolgt. Dauert die Wirkung der schädlichen Dämpfe fort, so platzt schließlich die Zelle an der am meisten angegriffenen Stelle des oberen Teils; am längsten bleibt die Myoidscheide erhalten.

¹⁾ Vgl. ALBERT DEGEN S. 173.

²⁾ MAX VERWORN: Die Bewegung der lebendigen Substanz. Jena 1892.

Die Säure ist hier in einer 1proz. Lösung noch fast ganz ohne Wirkung; diese tritt erst bei 2proz. Konzentration ein. Bevor die Zerstörung des Organismus beginnt, sieht man hier auch zuerst den Zellinhalt deutlich hervortreten: den langen gekrümmten Kern, den Körnerinhalt des Protoplasmas und den Myoidstreifen im Stiel. Die Einrollung des Stieles vor dem Tode erfolgt hier ganz ebenso wie bei NH_3 -Wirkung.

Auch bei anderen Infusorien, die gelegentlich, z. B. bei der Jauchenuntersuchung im Hängetropfen erscheinen, konnte eine ähnliche Wirkung der Ammoniakdämpfe konstatiert werden, so daß die Blasenbildung und die Auftreibung des ganzen Körpers wahrscheinlich eine allgemeine Erscheinung unter dem Einfluß der ammoniakalischen Dämpfe bei den Infusorien ist.

Euglena oxyuris.

Das Verhalten von *Euglena oxyuris* gegenüber ammoniakalischer und essigsaurer Dämpfe bietet keine prinzipiellen Unterschiede betreffs der dabei stattfindenden Formveränderungen. Essigsäure bis zu 0,1proz. Konzentration schien anfangs gar keine nachteilige Wirkung auf die Organismen auszuüben. Im Gegenteil, sie waren unter der Wirkung verdünnter saurer Dämpfe mehr beweglich, als beim Verschließen der Spaltöffnung mit Wasser und zeigten dieselbe hohe Empfindlichkeit auf die Richtung der sie beleuchtenden Sonnenstrahlen, wie sonst. Erst nach einer längeren Wirkungsdauer, z. B. nach $1\frac{1}{2}$ Stunde konnte man sehen, daß in dem sauren Tropfen schon absolute Ruhe herrschte mit den in der Mitte des Tropfens versunkenen Zellen, während in reinem Wasser einige in vertikaler Stellung im Schweben sich hielten, andere durch Zittern ihr Leben bezeugten.

Viel empfindlicher waren die Organismen gegenüber Ammoniak. Man konnte die Wirkung einer 0,02proz. Lösung etwa nach 10 Minuten sehr deutlich wahrnehmen: in der Mitte des Tropfens zu einem Haufen versammelt sind die Zellen nur noch ganz schwach an der Stelle beweglich. Ihre äußere Gestalt bietet kein einheitliches Bild: die einen sind gestreckt, die anderen zusammengezogen, in den metabolischen Bewegungen alle deutlich gelähmt. Ersetzt man in diesem Stadium die NH_3 -Lösung im Spalt durch 0,1proz. Essigsäure, so sieht man nach einer gewissen Zeit, daß einige von den Zellen mehr lebendig werden und sich auch in der Lichtrichtung durchzuarbeiten

suchen. Die abgestorbenen Zellen, nach längerer Wirkung von NH_3 und Essigsäure, haben alle dieselbe Gestalt: sie sind in der Mitte etwas aufgebläht, weisen keine größeren Einbiegungen des Körpers auf, wie man das bei den lebendigen immer sieht (Taf. VI Fig. 32), und besitzen meistens je eine große Vakuole in der Mitte (Taf. VI Fig. 33). Irgend welche blasige Auftreibungen an der Körperoberfläche wurden auch bei stärkerer Ammoniakwirkung (bis 0,1 Proz.) nicht bemerkt.

Eigenartig und in gewisser Beziehung unvergleichbar ist die Wirkung der Anilindämpfe auf die Gestalt von *Euglena oxyuris*.

Wird der Spalt mit halbgesättigtem oder gesättigtem Anilinwasser geschlossen, so sieht man, daß jede *Euglena*-Zelle, welche in die Wirkungssphäre der Anilindämpfe kommt, zuerst in ihrer fortschreitenden Bewegung angehalten wird. Die Zelle wird manchmal ganz gerade stabförmig, manchmal kommaartig gekrümmt, immer aber hat sie zeitweilig die metabolische Bewegungsart verloren und sieht aus, als ob sie ausgezogen wäre (Taf. VI Fig. 34).

Ersetzt man sofort die Anilininlösung durch Wasser, so gewinnen die Zellen ihre Beweglichkeit wieder; sie drehen sich spiralig unter den mannigfaltigsten Gestaltsänderungen (Taf. VI Fig. 25). Läßt man die Anilindämpfe länger wirken, so ziehen sich die Zellen später auch zusammen, und zwar beginnt die Verdickung meistens am hinteren Ende, wobei nur der starre Schwanz aus der birnenartig verdickten Zelle hervorragt; das Vorderende wird zuletzt eingezogen (Taf. VI Fig. 36). Man könnte sagen, daß die normale spiralig gekrümmte metabolische Bewegung der *Euglena*-Zellen in eine geradlinige übergegangen ist.

Die unter der Wirkung von Anilindämpfen abgestorbenen Zellen haben die normale Gestalt (Taf. VI Fig. 33).

Wahrscheinlich ist es die Beschaffenheit der Zellwand, welche den Unterschied des Verhaltens der *Euglena* im Vergleich zu den Infusorien gegenüber der chemischen „Reize“ bedingt (die ganz spezifische Wirkung von Anilin ausgenommen). *Euglena* wird in dieser Beziehung viel besser geschützt, wie das aus ihrem ganzen Verhalten ohne weiteres ersichtlich ist.

Amoeba proteus.

Amoeba proteus kann in ihrer Empfindlichkeit gegenüber der Wirkung saurer und ammoniakalischer Dämpfe mit *Vorticella* verglichen werden. Wie diese ist auch jene viel empfindlicher gegen

die Ammoniakwirkung als gegen Säurewirkung. Der Unterschied ist hier noch größer, indem einer 0,05—0,1proz. NH_3 -Lösung erst eine 5—10proz. Säurekonzentration entspricht. Die anfängliche Reaktion der Zelle ist immer dieselbe: die Aussendung von Pseudopodien hört auf, anstatt deren kurze Höcker von allen Seiten her ausgestreckt werden. Diese Höcker werden immer kleiner, erscheinen aber dafür immer zahlreicher, so daß nach einiger Zeit die ganze Zelloberfläche wie mit Warzen bedeckt ist (Taf. VI Fig. 37). Anfangs bekommt man den Eindruck, daß die von der schädlichen Wirkung des Agens betroffene Zelle allseitig einen Ausweg von ihrer Lage sucht; später, nachdem der ganze Plasmaklumpen ringsherum gleichmäßig warzig geworden ist und einige Zeit ruhig in dieser Gestalt verbleibt, scheinen die Oberflächenspannungsverhältnisse des aus dem lebendigen Organismus entstehenden Flüssigkeitstropfens in Hauptspiel zu treten. Das definitive Erlöschen des Lebens in der Zelle bezeugt sich durch allmähliche Ausgleichung ihrer Oberfläche — sie wird endgültig zu einem strukturlosen Flüssigkeitstropfen. In der Tat, entfernt man das schädlich wirkende Agens, bevor der Organismus getötet wird, d. h. bevor er zur vollkommenen Abrundung gekommen ist, so gelingt es, ihn wieder zum normalen Leben zu bringen. Der körnige Inhalt der Zelle tritt nach einer Ruhezeit (etwa $\frac{1}{2}$ Stunde) deutlicher hervor, es beginnt die Arbeit der Vakuole und es dauert nicht lange, so sieht man die Amöbe sich wieder phlegmatisch hin und her herumwälzen. Kommt aber die Besserung der Lebenslage zu spät, so tritt auch keine Heilung mehr ein: die zu einem Tropfen gewordene Amöbe läßt sich nicht wieder beleben; früher oder später platzt sie ganz wie die abgerundete *Glaucoma*-Zelle (Taf. VI Fig. 29).

Das ganze Spiel kann sehr verkürzt werden, eventuell fast mit Umgehen des Warzenstadiums, wenn vom Anfang an mit einer stärker konzentrierten Ammoniaklösung gewirkt wird. Dann bemerkt man nur eine rasch eintretende Abrundung des Amöbenkörpers, ihre „Totenstarre“, welcher unmittelbar das Platzen folgt. Eine noch energischer momentane Wirkung kann man mit starker Essigsäure (über 10 Proz.) erreichen: die Amöbe wird nicht einmal abgerundet, sondern an der Stelle in ihrer momentanen Lage fixiert (Taf. VI Fig. 38) und kurz darauf zerstört. Bei nicht so energischer Säurewirkung erfolgt in der getöteten Zelle eine Sonderung ihres Inhaltes in zwei Schichten: die innere dunklere Partie ist mit einer durchsichtigen Zone umgeben (Taf. VI Fig. 39).

Die Wirkung der Anilindämpfe war im allgemeinen derjenigen

von Ammoniak gleich, nur insofern milder, daß die Wiederbelebung der angegriffenen Zelle aus dem Warzenstadium leichter und rascher erfolgte.

Résumé.

Die vollkommene oder partielle Abrundung verschiedener einfacher Organismen, wie Rhizopoden, Infusorien usw. unter der Wirkung gewisser chemischer Substratänderungen ist lange bekannt. Bei den Rhizopoden führt sie VERWORN¹⁾ zusammen mit anderen Erscheinungen, wie „Ausstoßen von Körperinhalt (Nahrungsmassen, Körnchen, hyalinen Kugeln mit mehr oder weniger Flüssigkeit, ja sogar von Plasmateilchen und Zellkernen usw.) ... auf eine Kontraktion des Protoplasmakörpers oder einzelner Teile desselben zurück“.

Prof. ART. MEYER hat vor kurzem²⁾ über die Abrundung bei *Bacillus cylindricus* berichtet. In dieser Schrift ist sie für *Vibrio proteus* nachgewiesen. Wahrscheinlich kommt diese Erscheinung noch viel öfter im Bakterienreiche vor. Hier wird die Abrundung nicht durch Kontraktion, vielmehr durch eine Aufblähung der Organismen hervorgebracht. Für *Vibrio proteus* erwies sie sich als eine Krankheits- und Schwächungserscheinung und kann in diesem Falle als „vortödllich“ bezeichnet werden. Auch bei den Infusorien und z. B. bei *Euglena* ist eine teilweise Abrundung der Körpergestalt die Folge einer Aufblähung des Organismus und wird durch gewisse Diffusionsstörungen verursacht. Hier ist aber diese Deformation für den Organismus viel weniger gefährlich als bei den Bakterien, was wahrscheinlich mit den Strukturverhältnissen der Bakterienmembran im Zusammenhange steht.

Die Teilungsversuche an den niederen Organismen³⁾ haben gezeigt, wie leicht die Merozoiten ihre Pelliculahülle zu regenerieren imstande sind. Die beschriebene Wiederbelebung und Heilung der durch Alkoholwirkung angegriffenen *Glaucoma*-Zellen bietet auch ein Zeugnis ihrer großen Regenerierungsfähigkeit. Bakterielle Merozoiten sind bis jetzt, scheint mir, nicht bekannt. Ihr Verhalten

¹⁾ MAX VERWORN: Psycho-physiologische Protistenstudien. Jena 1889.

²⁾ ART. MEYER: Über Kugelbildung und Plasmoptyse der Bakterien. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1905 S. 349.

³⁾ S. PROWAZEK: Beiträge zur Protoplasmaphysiologie. Biol. Centralbl. 1901.
MAX VERWORN: Psycho-physiologische Protistenstudien.

würde die wichtigsten Schlüsse in bezug auf die Rolle der Membran im Leben dieser Organismen ziehen lassen. Vielleicht würde sich dann die Unterscheidung der Organismen nach dem Alter ihrer Hüllen rechtfertigen und auch die innige Verbindung des ausgeschiedenen Plasmatröpfchens mit dem anhängenden Häntchen bei der Plasmoptyse von *Vibrio proteus* begründen lassen.

Was schließlich diese letzte Erscheinung betrifft, so hat die vor einigen Jahren ausgesprochene Hoffnung,¹⁾ daß die ausgeschiedenen Protoplasmagebilde „in geeigneter Lösung neue Membranen bilden und nach ausreichender Kräftigung wieder zu neuen Individuen von normaler Gestalt anwachsen würden“, bis jetzt sich nicht erfüllt.

Die Plasmoptyse, ebenso bei *Vibrio proteus*, wie bei anderen Bakterien, ist eine Ausscheidung von Protoplasma an gewissen Körperstellen des betreffenden Organismus, welcher deformiert (noch einige Zeit) am Leben bleibt. Ob Plasmoptyse immer eine tödliche und irreparable Erscheinung ist, weiß man nicht. Von seiner „alten Haut“ wird der Organismus — so viel bis jetzt bekannt — nicht getrennt und es ist eine offene Frage, ob er überhaupt ohne diese Haut leben kann.

¹⁾ ALFRED FISCHER: Die Empfindlichkeit der Bakterienzelle und das bakterio-cide Serum. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1900.

Nachdruck verboten.

Übersetzungsrecht vorbehalten.

Zur Kenntnis von *Hyalodiscus rubicundus* HERTW. u. LESSER.

Von

H. R. Hoogenraad (Rijswijk, Holland).

(Hierzu 21 Textfiguren.)

A. Einleitung.

Die Lebenserscheinungen der interessanten Rhizopodengruppe der *Vampyrellida* sind zurzeit nur noch sehr unvollständig bekannt. Insbesondere gilt dies von der von HERTWIG u. LESSER (1874) entdeckten und von ihnen *Hyalodiscus rubicundus* benannten Form, welche später von KLEIN (1882) dem Genus *Vampyrella* untergeordnet und als *Vampyrella pedata* bezeichnet wurde. Als ich daher im Sommer 1906 gelegentlich der Untersuchung der Rhizopoden- und Heliozoenfauna eines Teiches in der Nähe meines Wohnortes diese Spezies in ziemlich großer Individuenzahl auffand, suchte ich möglichst viele Beobachtungen nach dieser Richtung hin zu sammeln. Um so mehr wurde ich dazu veranlaßt, als ein im Vorjahre gemachtes Studium von *Vampyrella lateritia* LEIDY mir hinsichtlich der Vermehrungserscheinungen nur negative Resultate geliefert hatte.

Ich studierte die Tiere in gewöhnlichen Deckglaspräparaten und kultivierte sie zugleich längere Zeit hindurch in feuchten Kammern. Beide Kulturmethode erwiesen sich als sehr geeignet, indem sich die Tiere, unter Ersetzung des verdampfenden Kulturwassers durch frisches, in demselben Präparate tagelang am Leben erhielten und keine Spur irgendwelcher Degenerationserscheinungen zeigten. Um die bei längere Zeit andauernden Kulturen fast immer

auftretenden Ansammlungen von Bakterien und anderen Pilzen fernzuhalten, setzte ich nach der von PALLA (1890) empfohlenen Methode der Kulturflüssigkeit kleine Mengen einer 0,01proz. Lösung von Kaliumbichromat zu, ein Verfahren, das sich auch bei anderweitiger Anwendung gut bewährt hat. Eine durch das Salz hervorgerufene Schädigung meiner Objekte habe ich niemals konstatieren können.

Damit die Kerne besser sichtbar würden, benutzte ich außer den schon von HERTWIG u. LESSER sowie auch von F. E. SCHULZE (1875) angewandten Reagentien Essigsäure und Kaliumbichromatlösung noch Boraxkarmin und Pikrokarmin. Die Färbungen wurden vorgenommen auf dem Objektträger, nachdem die Tiere in der von KORSCHOLT (1882) angegebenen Weise mittels 2proz. Chromsäure fixiert und in Alkohol gehärtet waren.

Die Figuren sind in 500facher Vergrößerung dargestellt.

B. Morphologie.

Die ausführlichsten Schilderungen der morphologischen Verhältnisse von *Hyalodiscus rubicundus* rühren von HERTWIG u. LESSER (1874), F. E. SCHULZE (1875, unter dem Namen *Plakopus ruber*) und KLEIN (1882) her. Auch CASU and HOPKINSON (1905) geben eine ziemlich eingehende Erörterung der Körpergestalt. Die Arbeit von PENARD (1902) habe ich leider nicht einsehen können. Ich habe den Ausführungen dieser Forscher nur wenig hinzuzufügen.

Bei der Betrachtung des Tieres von oben zeigt es zumeist die in Fig. 1 dargestellte Form. Der unregelmäßig querelliptische Plasmakörper, dessen Bewegungsrichtung von dem Pfeil angedeutet wird, mißt im größten Durchmesser 35—70 μ , im kleineren 20—50 μ ; die Größe ist daher ziemlich variabel. Es macht sich eine scharfe, während der Bewegung sich allerdings oft verwischende Sonderung in ein vorderes Ektoplasma und ein hinteres Entoplasma bemerkbar; die Grenzlinie der beiden Regionen steht auf der Bewegungsrichtung nahezu senkrecht. Von HERTWIG u. LESSER wird angegeben, daß das Entoplasma vom Ektoplasma immer allseitig umgeben wird; wenn diese Behauptung für alle Stadien des formveränderlichen Tieres ihre Gültigkeit hat, so ist doch bei der in Fig. 1 dargestellten Gestalt der hintere ekto-



Fig. 1.

plasmatische Randsaum so dünn, daß er auch bei stärkeren Vergrößerungen sich gänzlich der Beobachtung entzieht. Man vergleiche dagegen Fig. 6.

Wie aus der Betrachtung von der Seite her hervorgeht, ist der vertikale Durchmesser der beiden Körperteile ein sehr verschiedener. Während nämlich das Ektoplasma in der Form einer dünnen Lamelle vorgeschoben wird, steigt der Körper in der Gegend der Grenzlinie mehr oder weniger steil an, so daß das Entoplasma die Gestalt einer buckligen Erhebung erhält, welche am Hinterrande des Körpers steil herabfällt (Fig. 2).



← Fig. 2.

Der ektoplastische Körpersaum ist nicht, wie von HERTWIG u. LESSER sowie von SCHULZE angegeben wird, völlig homogen und strukturlos, sondern erweist sich bei Anwendung stärkerer Vergrößerungen als sehr fein granuliert, was auch von CASH and HOPKINSON bemerkt wird. In der Umgebung der Grenzlinie mischen sich zwischen diesen sehr feinen Granulis die gewöhnlichen mattblauen Körner des Rhizopodenplasmas, und das Entoplasma selbst ist dicht angefüllt mit großen aus der verdauten Nahrung herrührenden körnigen Einschlüssen, welche diesem Körperteil seine eigentümliche intensive Färbung verleihen, wodurch es sich vom vollkommen farblosen Ektoplasma so stark hervorhebt.

Diese Farbe ist zumeist ein lebhaftes Ziegelrot, welches mit zahllosen Nuancen durch ein schmutziges Braun in ein bräunliches Grün und schließlich in ein fast reines Grün übergeht. Kurz nach der Aufnahme der aus Chlorophyll bestehenden Nahrung herrscht die grüne Farbe vor, um bei weiter vorschreitender Verdauung in braun und rot überzugehen. Bei hungernden Individuen erblaßt die rote Farbe erheblich; vollkommen farblose Individuen habe ich aber niemals beobachtet. Der Farbenton des Entoplasmas ist am besten wiedergegeben in den Figuren von HERTWIG u. LESSER und von KLEIN; wie letztgenannter Autor bemerkt, ist das Kolorit der SCHULZE'schen Abbildungen nicht richtig.

Die gefärbten Körner bedingen durch ihre dichte Anhäufung die schwere zeitweilige Sichtbarkeit der Vakuolen, welche noch am leichtesten an der Grenzlinie von Ento- und Ektoplasma aufzufinden sind (Fig. 1). Trotz fleißigen Suchens ist es mir nicht gelungen, kontraktile Vakuolen zu beobachten; auch frühere Forscher erwähnen sie nicht. Nur SCHULZE bemerkt hierzu, daß das Pulsieren der Vakuolen nicht immer deutlich zu beobachten war; man kann

aber aus seinen Worten nicht herauslesen, ob er ihre Kontraktion tatsächlich gesehen hat oder nicht.

Besondere Nahrungsvakuolen, in denen die Verdauung der Nahrung vor sich geht, fehlen.

Die Anwesenheit eines Kernes wird schon von HERTWIG u. LESSER sowie auch von SCHULZE erwähnt; sein Bau sei der für die meisten Rhizopoden typische: ein dunkles Kernkörperchen umgeben von einem hellen Hof. KLEIN stellt dagegen das Vorkommen eines Kernes in Abrede. Zwar beschreibt auch er im Entoplasma eine dunkle Masse, „welche wahrscheinlich von den genannten Forschern“ (HERTWIG u. LESSER, SCHULZE) „als Zellkern angesehen wurde, und von der ich nachweisen kann, daß sie bloß ein zur Ausscheidung bestimmtes Produkt des mit der Bewegung zusammenhängenden Atmens und Stoffwechsels ist“.

„Die Schwärmer dieser *Vampyrella* können nämlich auch ohne vorherige Nahrungsaufnahme einen vorübergehenden Ruhezustand annehmen, wobei sie einfach zur Ruhe kommen, eine dünne Membran ausscheiden und so eine freiliegende kugelige Cyste bilden. Später, wenn aus dieser Cyste der Inhalt wieder, und zwar ungeteilt als Schwärmer austritt, ist in demselben die dunkle und für einen Zellkern angesehene Masse nicht zu finden, dagegen enthält die leere Cystenhülle ein braunes Klümpchen, wie es in Mehrzahl auch in den gewöhnlichen Cysten nach dem Austritt der Schwärmer zurückbleibt. Nach dem Gesagten bin ich also der Ansicht, daß das, was HERTWIG u. LESSER sowie F. E. SCHULZE als Kern ansehen, nur ein zur Ausscheidung bestimmtes Produkt des Stoffwechsels ist.“ (KLEIN, 1882, S. 206.)

Was nun meine eigenen Beobachtungen betrifft, so ist zunächst zu bemerken, daß die „dunkle Masse“ mit großer Konstanz im Entoplasma des *Hyalodiscus* auftritt. Bei durch reiche Nahrungsaufnahme sehr dunkelgefärbten Exemplaren ist sie gewöhnlich nicht sichtbar, in den allermeisten Fällen aber bietet ihr Auffinden keine erhebliche Schwierigkeit. Die betreffende Körperstelle sieht farblos oder etwas mattbläulich glänzend aus; in ihrer Mitte bemerkt man das Kernkörperchen, umgeben von dem Hof, der von Körnern frei ist, während um seinen Rand herum die Entoplasmakörner dichter aneinander gelagert scheinen als an irgend einer anderen Stelle des Körpers (Fig. 1 u. 2).

Eine Nachprüfung der von HERTWIG u. LESSER und SCHULZE angewandten Kernreaktionen mit Essigsäure und Kaliumbichromatlösung gab ganz übereinstimmende positive Resultate. Ebenso

lieferten mit Chromsäurelösung fixierte und mit Karminfärbungen tingierte Exemplare in der intensiven Aufspeicherung des Farbstoffes durch die „dunkle Masse“ den unzweideutigsten Beweis der Kernnatur des in Rede stehenden Zellteiles.

Eine weitere Stütze dieser Auffassung erwuchs aus dem Studium der Encystierungserscheinungen. Einige Individuen zeigten nämlich nach erfolgter Nahrungsaufnahme zwei gleich große Kerne in geringer gegenseitiger Entfernung (Fig. 3). Färbungsversuche, an einigen dieser doppelkernigen Individuen angestellt, fielen ebenso aus wie bei den einkernigen Tieren. Nun folgte aber bei den nicht gefärbten zweikernigen Tieren innerhalb 6—12 Stunden die Encystierung, welche ich in drei Fällen bis zum Ausschlüpfen der Tiere verfolgen konnte.



Fig. 3.

Es stellte sich dabei heraus, daß in sämtlichen Fällen die Tiere während dem Austreten sich teilten und in der Zweizahl die Cyste verließen. Bei solchen Tieren aber, welche sich bei der Encystierung nicht teilten und also einzeln austraten, war vor der Encystierung in allen beobachteten Fällen nur ein einziger Kern zugegen.

Es scheint nach dem Gesagten daher, als ob bei den sich während des Cystenstadiums teilenden Tieren der Kern schon zur Teilung heranschreitet, wenn das Tier sich noch im aktiven Bewegungsstadium befindet.

Was hat es nun mit der Behauptung KLEIN's auf sich? Die Cysten von *Hyalodiscus* sind normalerweise einem Algenfaden angeheftet, aber auch freiliegende kommen gelegentlich vor. Keineswegs aber kann ich mich mit der Behauptung KLEIN's einverstanden erklären, daß diese freiliegenden Cysten immer nur ein einziges „braunes Klümpchen“ als unverdauner Nahrungsrest enthalten; nicht

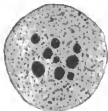


Fig. 4.

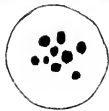


Fig. 5.

selten bemerkt man ihrer zwei, drei oder noch mehrere. In Fig. 4 ist eine solche freiliegende Cyste abgebildet mit nicht weniger als neun Nahrungsresten; Fig. 5 stellt die nämliche Cyste nach Austritt

des Tieres vor. Auch SCHULZE scheint derartige Cysten gekannt zu haben. „Züchtungsversuche mit *Plakopus ruber*“ (= *Hyalodiscus*), schreibt er, „welche einerseits in größeren Glasgefäßen, andererseits auf dem Objektträger in der feuchten Kammer gemacht wurden, schlugen fehl, so daß ich über die Vermehrung des Tieres nichts Bestimmtes ermitteln konnte. Indessen will ich doch nicht unterlassen, hier auf eine Bildung aufmerksam zu machen, welche ich häufig mit vielen lebhaft sich bewegenden *Plakopus* zugleich antraf, nämlich scharf begrenzte kuglige Körper, etwa vom Durchmesser der kleineren Tiere, welche von einer dünnen hellen Membran umschlossen waren und im Innern eine große Menge ähnlicher rotbraun gefärbter Körnchen, wie sie bei *Plakopus* vorkommen, außerdem aber eine Anzahl dunkelbrauner kugeligter Körper enthielten, welche an Größe etwa dem Kernkörperchen unseres Tieres entsprachen und zuweilen in einer äquatorialen Gürtelzone gelagert waren“ (SCHULZE 1875, S. 351, 352). Vergleicht man die SCHULZE'sche Abbildung tab. 19 fig. 15, wo die Cyste zwölf Nahrungsreste enthält, mit meiner Fig. 4, so tritt die frappante Übereinstimmung beider Bilder ohne weiteres hervor. Daß, wie KLEIN behauptet, die als Zellkern gedeutete Masse nach dem Austreten des Tieres nicht in demselben zu bemerken sei, ist ebenfalls unrichtig. Zwar stellen sich der direkten Beobachtung des Kernes in diesem Stadium wegen der dichten Häufung der Entoplasmaeinschlüsse nicht geringe Schwierigkeiten entgegen. Allerdings gelang es mir mehrere Male durch vorsichtiges Zerdrücken der Tiere und nachheriger Fixierung und Tinktion auch in diesem Stadium die Existenz eines Kernes außer Zweifel zu setzen.

Es handelt sich somit in der „dunklen Masse“ wohl um einen wesentlichen Zellkern.

Die Pseudopodien der typischen Form, wie sie anderen Spezies der Gattung *Vampyrella* (*Vampyrella lateritia* LEIDY, *V. pendula* CIENKOWSKI usw.) eigen sind, fehlen bei *Hyalodiscus* durchweg. Was SCHULZE als Pseudopodien beschreibt, welche in der Gestalt ganz dünner Membranen frei durch das Wasser vorgeschoben werden, dabei trichter- oder kappenförmige Hohlräume bildend mit nach außen gerichteter Mündung, sind nichts weiter als sich nach allen Seiten erhebende Falten des ektoplasmatischen Körpersaumes und von den eigentlichen Pseudopodien durchaus verschieden. Nebenher sei bemerkt, daß diese für *Hyalodiscus*



Fig. 6.

allerdings sehr typische Erscheinung der Faltenbildung bei meinen Exemplaren zwar nicht fehlte (vgl. z. B. Fig. 6), aber bei weitem nicht so energisch auftrat, wie SCHULZE es beschreibt und in seinen Figuren abbildet.

Die radialen, fadenförmigen Pseudopodien, wie sie in typischer Ausbildung vor allem den Heliozoen zukommen, entwickeln sich auch bei *Hyalodiscus* gelegentlich. In Fig. 7 ist dieses Stadium, welches ich nur wenige Male beobachtete, abgebildet. Auch PENARD (1902,

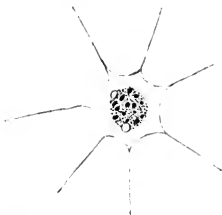


Fig. 7.

citiert bei CASH and HOPKINSON, 1905, tab. 13 fig. 5) hat diese Form wahrgenommen und als Ruhestadium gedeutet.

Die Bewegung von *Hyalodiscus* ist zumeist eine sehr lebhaftes und wird von HERTWIG u. LESSER in vortrefflicher Weise geschildert.

C. Ernährung.

Die ersten Beobachter von *Hyalodiscus* hatten über dessen Ernährung nichts ermitteln können. HERTWIG u. LESSER sprechen hinsichtlich der Art der Nahrung keine Vermutungen aus, finden es aber wahrscheinlich, daß die Nahrung in das Körperparenchym eingedrückt wird, während das Tier über dieselbe hingeleitet. Die gefärbten Entoplasmakörner seien offenbar mehr oder weniger assimilierte Nahrungsstoffe pflanzlichen Ursprungs. SCHULZE erwähnt das

Vorkommen intensiv grüner Körnchen neben den gewöhnlichen roten und den Übergang der einen Farbe in die andere; er meint ferner, daß die grünen Körner ursprünglich Chlorophyllkörner-ähnliche Gebilde waren, über deren Herkunft er sich nicht weiter verbreitet. WEST (1901) sagt über seine Exemplare, welche er unter dem KLEINschen Namen *Vampyrella pedata* aufführt, Folgendes: „They had previously been gorging themselves with food, as they were filled with large numbers of small Desmids, the contents of which had also become of the same red colour. I was at first inclined to regard them as forms of *Hyalodiscus rubicundus*, but I think there is no doubt that the form described and figured by HERTWIG & LESSER is merely a stage of *Vampyrella pedata*“ (WEST, 1901, p. 334).

Ausführliche und genaue Daten über die Ernährung finden sich dagegen bei KLEIN. *Hyalodiscus* ernährt sich nach ihm mit dem lebenden Zellinhalt von Chlorophyceen und zwar von *Oedogonium*-Arten. Die Tiere setzen sich seitlich dem *Oedogonium*-Faden an und zerlöchern die Zellwand; dann wird der Zellinhalt entweder ganz (bei kleineren Zellen) oder nur teilweise aufgenommen. Bei kleinzelligen *Oedogonien* wird der Inhalt mehrerer Zellen nacheinander erbeutet. Je nach der Menge der aufgenommenen Nahrung ist die ursprünglich rote Farbe mehr oder weniger durch die grüne des Chlorophylls modifiziert, bis nach 1—3 Tagen die dem Reifezustand entsprechende Färbung angenommen wird und die dunklen Flecken erscheinen, die den unverdauten Nahrungsrückständen entsprechen.

Was nun zunächst die Art des Nahrungsmaterials anbelangt, so ist nach meinen Erfahrungen *Hyalodiscus* nicht weniger wählerisch wie die *Vampyrella*-Arten. Ausnahmslos ernährten sich meine Tiere ebenso wie die von KLEIN beobachteten mit dem Inhalte von *Oedogonium*-Zellen. Im ursprünglichen Kulturwasser waren *Oedogonium*- und *Spirogyra*-Arten mit etwa gleicher Häufigkeit vertreten, daneben noch andere Chlorophyceen, endlich Diatomeen und Desmidiaceen in großer Spezies- und Individuenzahl. In diesem gemischten Material war die Nahrungsauswahl immer eine extrem einseitige: niemals wurden andere Algen als *Oedogonium* angegriffen. Und selbst als ich den Versuch machte, die Tiere absichtlich in eine von *Oedogonien* freien Umgebung zu bringen, beharrten sie bei den ihnen eigenen Gewohnheiten: es wurde keine andere Chlorophyllnahrung, weder von *Spirogyra*, noch von Desmidiaceen oder Diatomeen aufgenommen, und die Tiere gingen schließlich unter ausgesprochenen Inanitionserscheinungen ein.

Bei der Nahrungsaufnahme verfährt *Hyalodiscus* in derselben Weise wie auch *Vampyrella lateritia*. Nachdem das Tier sich einer *Oedogonium*-Zelle seitlich angesetzt, sieht man eine Zeitlang kaum irgend welche Veränderung vor sich gehen, indem das Tier sich ganz ruhig und bewegungslos verhält; es ist damit beschäftigt, die Wand der Zelle zu lösen. In welcher Weise es dabei vorgeht, ist nicht bekannt. Nach einiger Zeit stürzt sich plötzlich der Chromatophor der Zelle mit dem Protoplasma durch das entstandene Loch; gewöhnlich ist dieser Akt innerhalb einer oder zwei Minuten vollendet und der gesamte Inhalt der pflanzlichen Zelle in das Körperplasma des Tieres hinübergegangen, wo der Chromatophor noch deutlich als eine grüne Masse zu unterscheiden ist (Fig. 8). Ein Abbrechen des Chromatophoren habe ich bei *Hyalodiscus* nicht beobachtet, bezweifle



Fig. 8.

aber nicht, daß die diesbezügliche Beobachtung KLEIN's ihre Richtigkeit hat. Der allgemeine Verlauf des beschriebenen Vorganges ist ziemlich einförmig; eine ganz eigentümliche Erscheinung, welche der Nahrungsaufnahme folgte und meines Wissens bisher noch nicht beobachtet wurde, teile ich im Folgenden mit.

Wenn der Übergang des pflanzlichen Zellinhaltes in den Körper von *Hyalodiscus* vollendet ist, entfernt das Tier sich nicht immer sogleich, wie das zumeist der Fall ist, sondern beharrt bisweilen in seiner Stellung über der Öffnung in der Zellwand. Einige Zeit später erscheint ein farbloser Plasmafortsatz an der Außenseite des Tierkörpers, und zwar an dessen der Zellöffnung zugewendeten Seite, welcher sich allmählich weiter ausdehnt und sich durch die Öffnung selber in der leeren *Oedogonium*-Zelle ausbreitet. Am distalen Ende dieses Fortsatzes bilden sich alsbald sehr feine, spitze, pseudopodienartige Ausläufer aus, welche tastend wie Finger der Innenwand der Zelle entlang gleiten, um dann an einer der beiden Querwände, welche die Zelle von den beiden benachbarten scheidet, zur Ruhe zu kommen (Fig. 9). Weiteres Protoplasma fließt nun nach, bis schließlich die spitzen Ausläufer wieder verschwunden sind und das nunmehr

stumpfe Vorderende des Plasmafortsatzes der Querwand der Zelle dicht anliegt (Fig. 10). Nun tritt wieder eine Ruhepause ein, während welcher man die Plasmamasse in der leeren Zelle gemach beobachten kann. Wie gesagt, ist er ganz farblos, aber sehr deutlich gekörnelt.



Fig. 9.

Die Körner sind in nur geringer Bewegung oder ganz in Ruhe. Bisweilen meinte ich aus Einzelheiten des optischen Querschnittes des Fortsatzes die Ansicht zu gewinnen, daß es sich in ihm um ein hohles Gebilde handelte, indem die beiden Längsseiten bei mittlerer



Fig. 10.

Einstellung beträchtlich dunkler aussahen als der centrale Teil. Mit Sicherheit kann ich das aber nicht behaupten.

Nachdem nun das Tier eine gewisse Zeit in seiner Stellung beharrt, entsteht eine Öffnung in der Querwand der *Oedogonium*-Zelle, der Inhalt der benachbarten Zelle kommt in Bewegung, wird langsam durch die Öffnung hindurchgezogen und wandert dem in der leeren Zelle steckenden Protoplasmafortsatz entlang dem *Hyalodiscus*-Körper zu. Gleichzeitig verschwindet auch der Protoplasmafortsatz selber, und entweder entfernt das Tier sich nun, oder es



Fig. 11.

bildet nach einiger Zeit einen gleichen Fortsatz, um damit auch die auf der anderen Seite gelegenen Zellen in gleicher Weise zu entleeren (Fig. 11–14).

Nicht immer verläuft der Vorgang so glatt, wie geschildert. Es kommt vor, daß bei der Plünderung einer seitlichen Zelle durch

die Querwand hindurch, der Chromatophor sich zu einem nuregelmäßigen Klumpen zusammenballt, welcher zu groß ist, um die Öffnung in der Querwand zu passieren; dann bricht der Chromatophor ab und bleibt teilweise in der Zelle zurück.



Fig. 12.

Die seitlich in den Zellwänden der Oedogonien gemachten Öffnungen sind oft unschwer aufzufinden. Es hatte aber alsbald meine Aufmerksamkeit auf sich gezogen, daß bei einigen leeren Zellen, deren Entleerung ich der Tätigkeit von *Hyalodiscus* zuschrieb, die Löcher auch mit der größten Mühe nicht zu entdecken waren.



Fig. 13.

Diese Tatsache findet nun ihre Erklärung in dem Umstand, daß der Zellinhalt diese Zellen durch die Querwand verlassen hatte, um durch die nächstliegende Zelle in den *Hyalodiscus*-Körper hinüber zu wandern. Unschwer konnte ich nun bei weiterem Nachsuchen leere Zellen in Gruppen von je drei nebeneinander finden, deren



Fig. 14.

mittelste eine Öffnung in der Längswand aufwies, während den beiden seitlichen eine solche fehlte. Die Öffnungen in den Querwänden direkt zu beobachten ist mir nicht gelungen. Bedenkt man, daß die Flächen dieser Wände fast immer in der Gesichtslinie liegen und nur ausnahmsweise von ihrer flachen Seite zu sehen sind, so ist das wohl begreiflich.

D. Encystierung.

Wenn so das Tier den Inhalt einiger Zellen aufgenommen hat, schreitet es zur Encystierung. Die Cysten, welche übrigens auch, wie schon KLEIN bemerkt, ohne vorherige Nahrungsaufnahme entstehen können, liegen entweder frei im Wasser oder, was am meisten der Fall ist, sind einem *Oedogonium*-Faden angeheftet (Fig. 15—21).



Fig. 15.



Fig. 16.



Fig. 17.

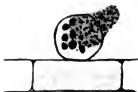


Fig. 18.



Fig. 19.



Fig. 20.

Oft findet die Encystierung statt gerade an derjenigen Zelle, deren Inhalt die letzte Nahrung des Tieres ausmachte. Es nimmt das Tier dann eine mehr oder weniger kugelige oder unregelmäßige Gestalt an und scheidet jetzt an seiner Oberfläche eine dünne Membran aus. Ich habe mir große Mühe gegeben zu entscheiden, ob diese

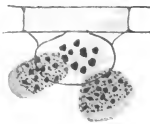


Fig. 21.

Membran, wie KLEIN dartut, einfach ist, oder ob vielleicht noch eine zweite Hülle um die erstere besteht, welche dann dem von CIENKOWSKI (1865) so genannten Schleier (Velum) entsprechen würde. Anfangs vermochte ich nichts derartiges aufzufinden. Als sich mir indessen die Gelegenheit dargeboten hatte, ein umfangreiches Material von *Vampyrella pendula* CIENK. zu studieren, an deren Cysten der Schleier ziemlich leicht zu beobachten ist, nahm ich, gestützt auf dieses Vergleichsmaterial, auch an *Hyalodiscus* die Untersuchungen wieder auf. Und tatsächlich gelang es mir nun an einigen günstigen Objekten, dort wo die Cystenmembran sich der Wand der *Oedogonium*-Zelle nähert, eine sehr feine Linie zu finden, welche ich für den Schleier halten möchte (Fig. 16 u. 21). Die Schwierigkeiten der Beobachtung sind aber groß, und meiner Mitteilung möchte ich daher nur einen provisorischen Wert beimessen; vielleicht gelingt es später sie definitiv zu bestätigen.

Der Körper von *Hyalodiscus* füllt den Hohlraum der Cyste gänzlich aus, so daß ein leerer Raum um denselben, wie er z. B. bei *Vampyrella lateritia* vorkommt, hier fehlt (Fig. 15 u. 16). Ein oft, aber nicht immer auftretendes Gebilde an der Cyste ist ein kurzer Stiel, mit dem die Cyste in der leeren *Oedogonium*-Zelle steckt (Fig. 17). Auf diesen fußförmigen Fortsatz bezieht sich der Speziesname der KLEIN'schen Bezeichnung *Vampyrella pedata*.

Der encystierte Zustand währt einen oder zwei Tage, mitunter auch wohl länger. In diesem Zeitraum ändert sich der Inhalt der Cyste kaum; nur treten mit stets zunehmender Deutlichkeit die unverdauten Nahrungsrückstände in der Form dunkelbrauner, oft fast schwarzer Massen im Körperplasma hervor (Fig. 15 u. 16). Endlich tritt der Inhalt der Cyste aus; bei kleineren Cysten ungeteilt (Fig. 18—20), bei größeren unter gleichzeitiger Zweiteilung, wobei die beiden Teilhälften durch zwei verschiedene Öffnungen in der Membran der Cyste dieselbe verlassen (Fig. 21). Eine Teilung in mehr als zwei Teile kam nicht vor. In der Cystenhülle bleiben die Nahrungsreste zurück (Fig. 17, 20, 21). Die eben ausgetretenen Tiere nehmen fast momentan die gewöhnliche *Hyalodiscus*-Gestalt an.

Die von KLEIN erwähnten Doppelcysten habe ich nicht gesehen. Auch Danercysten, wie sie z. B. bei *Vampyrella pendula* häufig sind, scheinen nicht vorzukommen.

E. Vermehrung.

Die im Vorhergehenden beschriebene Teilung im encystierten Zustande ist der einzige bisher beobachtete Reproduktionsmodus von *Hyalodiscus*: eine freie Zellteilung ohne vorherige Encystierung ist unbekannt. Wie oben angedeutet wurde, findet die Kernteilung wahrscheinlich statt, bevor das Tier sich encystiert; den Modus der Kernvermehrung vermochte ich nicht zu verfolgen.

Die beiden Teilhälften eines Individuums wandern kürzere oder längere Zeit umher, nehmen Nahrung auf, encystieren sich und treten ungeteilt oder nach Zweiteilung aus, womit der augenscheinlich einfache Lebenszyklus des Tieres geschlossen ist.

Ich möchte an dieser Stelle noch einige Bemerkungen einschalten bezüglich eines Punktes der Arbeit KLEIN's über *Vampyrella* (inkl. *Hyalodiscus*). Hauptzweck dieser Arbeit ist, wie der Autor selber sagt, zu zeigen, daß die Hauptmomente der Entwicklung der *Vampyrella* „mehr pflanzlicher Natur sind und daß sie somit mit größerem Rechte als Pflanze denn als Tier anzusehen ist“. Eine nicht geringe Stütze dieser Auffassung ist die von KLEIN mit großem Nachdruck betonte Neigung der meisten *Vampyrella*-Arten zur „Kopulation der Schwärmer“. Obgleich nun KLEIN bei *Hyalodiscus* die „Paarung der Schwärmer“ nicht direkt beobachtet hat, meint er doch aus gewissen Tatsachen dieselbe indirekt folgern zu können. Es schien mir aber von vornherein, als ob genannter Forscher die Bedeutung der Konjugation für die *Vampyrella*-Arten sehr überschätzt hat, und es war mir daher sehr daran gelegen, bei *Hyalodiscus* etwaigen Konjugationserscheinungen auf die Spur zu kommen. Ich wandte somit diesem Punkt vom Anfang meines Studiums an meine volle Aufmerksamkeit zu. Aber nicht ein einziges Mal trat bei meinen Tieren eine Konjugation zweier Individuen auf, auch nicht wenn zwei Individuen sich einander zum Berühren genähert hatten. Nnn versuchte ich die Möglichkeit einer Konjugation zu vergrößern, indem ich die Tiere in großer Zahl in ein und dasselbe Präparat zusammenbrachte, so daß der Kulturetropfen zuletzt nicht weniger als 40–50 Individuen enthielt. Aber alle meine Bemühungen blieben erfolglos: es trat eine Konjugation zweier Tiere niemals ein.

Wiewohl ich also das eventuelle Vorkommen einer Konjugation bei *Hyalodiscus* nicht entschieden in Abrede stellen kann, so möchte ich dennoch ausdrücklich hervorheben, daß bisher kein einziger Forscher sie direkt beobachtet hat, und daß bei meinem im ganzen

vielleicht aus nahezu 200 Individuen bestehenden Material selbst absichtlich der Vorgang nicht hervorzurufen war.

F. Systematische Stellung.

Die unbeschalteten Rhizopoden werden zweckmäßig in die drei Gruppen der *Lobosa*, *Reticulosa* und *Vampyrellida* eingeteilt. Obwohl diese Einteilung eigentlich nur die Natur der Pseudopodien als Principium divisionis berücksichtigt, so erscheint sie dennoch als eine natürliche, angesichts des Mangels an anderen scharf umschriebenen Merkmalen der Körperbeschaffenheit. Ob man genannte Gruppen als Familien oder als Ordnungen auffassen will, ist von nebensächlicher Bedeutung.

Die Pseudopodien der *Lobosa* sind gewöhnlich am distalen Ende stumpf und abgerundet, zuweilen eingeschnitten, diejenigen der *Reticulosa* zeichnen sich aus durch ihre mehr fadenförmige Gestalt, sind dabei oft sehr reich verzweigt und bilden durch Zusammenfließen weitmaschige Protoplasmanetze. Die *Vampyrellida* stehen gewissermaßen in der Mitte zwischen den zwei vorigen Abteilungen: während nämlich ihre Pseudopodien zwar spitz und fadenförmig sind und selbst an ihrer Basis sich mehr oder weniger verästeln können (z. B. *Nuclearia delicatula* CIENK., *Nuclearia conspicua* WEST), fließen sie niemals zusammen und ist die bei den *Reticulosa* vorkommende Netzbildung hier ausgeschlossen. Durch den Bau der Pseudopodien nähern sich die *Vampyrellida* den *Heliozoa*, und Exemplare von *Vampyrella lateritia* oder *Nuclearia delicatula* können z. B., wenn der Plasmakörper zeitweise eine kugelige Form annimmt, einem *Heliozoon* täuschend ähnlich sehen.

Welche Stellung nimmt nun *Hyalodiscus rubicundus* innerhalb dieser Gruppen ein? Von KLEIN wurde er einfach dem Genus *Vampyrella* untergeordnet; wo aber die für dieses Genus typischen Pseudopodien bei *Hyalodiscus* durchweg fehlen und nur bei hoher Ausnahme (Fig. 7) vorkommen, ist eine derartige Klassifikation zweifelsohne unrichtig. Aber auch in der ganzen Gruppe der *Vampyrellida* nimmt das Tier eine Sonderstellung ein. Wenn man nämlich in dieser Gruppe die Genera *Vampyrella*, *Nuclearia*, *Archerina* und *Hyalodiscus* vereinigt, da sind den drei erstgenannten Gattungen die fadenförmigen spitzen Pseudopodien gemeinsam, bei *Hyalodiscus* fehlen sie dagegen. Die Unterordnung von *Hyalodiscus* zur *Vampyrellida*

geschieht demnach nur unter Erweiterung der spezifischen Merkmale der Gruppe und zwar wegen der zunächst aus physiologischen Gründen angenommenen Verwandtschaft des Tieres mit der Gattung *Vampyrella*. Berücksichtigt man aber die sehr auffallende Übereinstimmung der entwicklungsgeschichtlichen Daten der Gattungen *Vampyrella* und *Hyalodiscus*, dann scheint es nicht angemessen, letztere Gattung von den *Vampyrellida* auszuscheiden und sie den *Lobosa* unterzuordnen, denen sie dann jedenfalls am nächsten verwandt sein möchte.

Es scheint daher berechtigt, in *Hyalodiscus rubicundus* eine zur *Vampyrellida* gehörige Tierform zu erblicken, welche den Übergang dieser Gruppe zu den ihr nahe verwandten *Lobosa* vermittelt.

Oktober 1906.

Wichtigste Literatur.

- CIEŃKOWSKI, L. (1865): Beiträge zur Kenntnis der Monaden. Arch. mikr. Anat. V. 1.
 HERTWIG, R. u. LESSER, E. (1874): Über Rhizopoden und denselben nahestehende Organismen. Arch. mikr. Anat. V. 10. (Suppl.)
 KLEIN, J. (1882): *Vampyrella* CIEŃK., ihre Entwicklung und systematische Stellung. Bot. Centralbl. V. 11.
 KORSCHULT, E. (1882): Eine neue Methode zur Konservierung von Infusorien und Amöben. Zool. Anz. V. 5 Nr. 109.
 PALLA, E. (1890): Beobachtungen über Zellhautbildung an des Zellkernes beraubten Protoplasten. Flora.
 PENARD, E. (1902): Faune rhizopodique du Bassin du Léman.
 SCHULZE, F. E. (1875): Rhizopodenstudien III—V. Arch. mikr. Anat. V. 11.
 WEST, G. S. (1901): On some British Freshwater Rhizopods and Heliozoa. J. Linn. Soc. Zool. V. 28.
 — (1903): Observations on Freshwater Rhizopods, with some Remarks on their Classification. J. Linn. Soc. Zool. V. 29.

Die weitere Literatur findet sich zusammengestellt bei

- CASH, J. and HOPKINSON, J. (1905): The British Freshwater Rhizopoda and Heliozoa. V. 1 Part I.

Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

Aus dem Königlichen Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.
Direktor: Geh. Ober-Med.-Rat Dr. Gaffky.
Abteilungsleiter: Dr. Schilling.

***Spirochaeta culicis* nov. spec.**

Von

Dr. J. Jaffé

Assistenten am Institut.

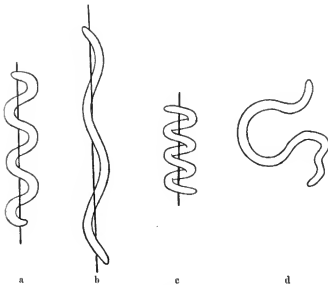
(Hierzu Tafel III u. 2 Textfiguren.)

Die seit der Entdeckung der *Spirochaeta pallida* durch SCHAUDINN in den Vordergrund des Interesses gerückten Spirochätenstudien lassen jeden neuen Beitrag zur Erforschung der Lebenserscheinungen dieser Organismen erwünscht erscheinen. Die Gelegenheit, einen solchen Beitrag zu liefern, bot sich mir in der Auffindung einer bisher noch nicht beschriebenen Art dieser Lebewesen im Magendarmkanal der Larve einer heimischen weitverbreiteten *Culex*-Art.

Das Untersuchungsmaterial stammte hauptsächlich aus einer nicht weit vom Institut für Infektionskrankheiten zwischen Stallgebäuden gelegenen Cisterne, in die außer dem Regenwasser auch noch die durch die undichten Stallmauern hindurchsickernden Abwässer aus den von Pferden besetzten Ställen Zutritt hatten.

Einen zweiten Fundort für *Culex*-Larven bot eine im Instituts-
garten zwischen Gebüsch stehende Karre, in der sich während des Sommers Regenwasser angesammelt hatte. In ungefähr 90 Proz. der von diesen beiden Orten entnommenen *Culex*-Larven konnte die im folgenden zu beschreibende Spirochäte in großen Mengen nachgewiesen werden. Die Suche nach diesen Organismen in dem die Larven beherbergenden Wasser war ergebnislos, sei es, daß die Proben aus tieferen Schichten nach Umwühlen des Cysterneninhaltes, sei es, daß sie ganz vorsichtig von der Oberfläche entnommen wurden.

Die Präparation des Magendarmkanals der Larve ist leicht zu bewerkstelligen. Nach Ablösung des Kopfes und Lockerung des letzten Leibesringes läßt sich der Darm meist unverletzt herausziehen. Man sieht dann schon bei Anwendung der Trockenlinse, ZEISS DD Vergr. 220, die Spirochäten oft in großen Mengen längs der Darmwand parallel zu dieser gestellt, besonders gut an Stellen, wo durch Verschiebung des Darminhaltes eine Lücke entstanden ist, in lebhaftester Bewegung, durch diese gut kenntlich. Die nach Zerstörung der Darmwand in die freie Flüssigkeit gelangten Individuen bieten infolge ihrer Größe — sie übertreffen darin die kürzlich von HARTMANN u. MÜHLENS (1) beschriebene *Spirochaeta buccalis* um ein geringes — ein günstiges Objekt zur Beobachtung der verschiedenen Bewegungsphasen, die die Spirochäten überhaupt im Gegensatz zu den starren nur der schraubenförmigen Bewegung nach vor- oder rückwärts fähigen Spirillen auszeichnen. Diese mannigfaltigen, in der Literatur zwar schon häufig beschriebenen, aber soweit mir bekannt, noch niemals bildlich wiedergegebenen Bewegungsmöglichkeiten seien bei der Wichtigkeit gerade dieses Unterscheidungs-momentes gegenüber morphologisch ähnlichen Organismen bei dieser Gelegenheit im folgenden Schema veranschaulicht.



Textfigur A.

1. Das am häufigsten zu beobachtende Bild zeigt uns die Spirochäte in Form regelmäßiger spiraliger Windungen von gleicher Länge und Tiefe (s. Fig. A, a). Die Bewegung erfolgt dann in schraubenförmiger Weise nach vor- oder rückwärts, wobei die Schraube ihre starre Form behalten kann. Es findet außerdem eine wellenförmige über den ganzen Körper in beiden Längsrichtungen verlaufende Bewegung statt, die besonders deutlich wird, wenn die Spirochäte sich nicht von der Stelle bewegt.

2. Der Körper besitzt weiter die Fähigkeit, sich bei sehr lebhaftem Vorwärtsgleiten auszustrecken, wobei die Zahl der Windungen verringert werden kann, und die Tiefe der Windung abnimmt, eine Bewegung, wie man sie am besten mit dem Dehnen einer Spiralfeder vergleichen kann (s. Fig. A, b).

3. Ebenso wie eine Verlängerung kann auch eine Verkürzung der Windungen bis zur engen Schraubenform beobachtet werden, am besten wiederum mit dem Zusammenschnellen einer Spiralfeder zu vergleichen (s. Fig. A, c).

4. Sehr charakteristisch ist der in Fig. A, d festgelegte Bewegungsvorgang, ein Beweis für die außerordentliche Flexibilität der Spirochäte. Der Körper biegt sich plötzlich unter Ausgleich sämtlicher Windungen zu einem geschlossenen Kreise zusammen und schnell dann mit großer Vehemenz wieder zur alten Form zurück. Besonders scheint dies der Fall zu sein, wenn das eine Ende des Individuums durch irgendein Hindernis, z. B. ein Gewebsfäserchen fixiert ist. Man sieht dann auch peitschenartige Bewegungen mit dem freien Ende, die an die Geißelbewegungen der Flagellaten erinnern. Ansführlich hat derartige Bewegungsvorgänge von PROWAZEK (2) für die Hühnerspirochäten beschrieben.

Unter dem Deckglas in dem mitsamt den Larven entnommenen Wasser, in Leitungswasser oder physiologischer Kochsalzlösung aufgehoben, behalten die Spirochäten 2—3 Stunden ihre gute Beweglichkeit. Tritt eine Verlangsamung oder vollkommene Ruhe der Bewegungen ein, so ist ihre Form leicht als nicht cylindrisch, sondern deutlich bandartig, nach den Enden zu sich verjüngend zu erkennen. Eine schärfere Konturierung der einen oder anderen Kante dieses Bandes ist nicht zu bemerken, auch deutet nichts auf die Anwesenheit irgendwelcher geißelförmiger Bewegungsorgane hin. Der Körper erscheint schwach lichtbrechend, gleichmäßig hell ohne jede Körnelung. Eine solche wird mitunter vorgetäuscht, wenn durch größere Windungstiefe einer aufrechtstehenden, d. h. mit der Achse des Mikroskops

zusammenfallenden Windung an dieser Stelle eine stärkere Lichtzerstreuung hervorgerufen wird. Es erscheint dann ein dunkler Fleck in heller Umgebung. Dieser Irrtum aber klärt sich bei Bewegungen des Körpers und beim Verschieben des Tubns leicht auf. Vitale Färbung mit wässriger Methylenblau- und Brillantkresylblaulösung ergab keinerlei Anschluß über feinere Strukturverhältnisse.

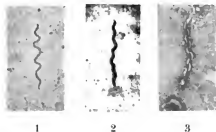
Durch Kalilauge (1proz.) gelang es die Spirochäten vollkommen aufzulösen, ein deutliches Unterscheidungsmerkmal gegenüber den unlöslichen Spirillen. Destilliertes Wasser bewirkte schnellen Bewegungsstillstand und Undeutlichwerden der Konturen. Konzentrierte Kochsalzlösung (4proz.) brachte keinen merklichen Einfluß hervor.

Die Anfertigung der gefärbten Deckglaspräparate erfolgte einmal durch einfaches Antrocknen mit folgender Alkoholfixierung für die Giemsa-Färbung, außerdem durch Fixierung mit Osmiumsäure. Wesentliche Unterschiede ergaben sich hierbei nicht. Auch war es gleichgültig, ob die Präparate vorher in dem aus den betreffenden Fundorten stammenden Wasser, in Leitungswasser oder physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt worden waren. Die gefärbten Präparate zeigen sämtliche der oben beschriebenen Bewegungsphasen, teils ganz regelmäßige Windungen in der Zahl schwankend zwischen zwei (Fig. 5) und sechs (Fig. 17), teils lang ausgezogene abwechselnd mit engeren Windungen. Es finden sich bogenförmige winklig geknickte ganz zusammengerollte Individuen (Fig. 9), kurz es bietet sich das Bild mannigfachster Bewegungsformen.

Die Giemsa-Färbung ergibt meist eine gleichmäßig violett-rötliche Tingierung des ganzen Körpers. Manchmal aber sind Lücken (Fig. 3) innerhalb des sonst gleichmäßig gefärbten Protoplasmas zu sehen. Das gleiche Bild tritt uns auch in den mit Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN behandelten Präparaten entgegen. Diese hellen Stellen mit undentlicher Begrenzung, die schon häufig beobachtet wurden, entbehren noch der Erklärung. In neuerer Zeit beschrieb sie ZETZNOW (3) für die Rekurrenspiroschäten und erklärte sie als Querteilungsbilder. Sie als solche anzufassen gaben unsere Präparate keine Möglichkeit.

Eine deutliche Trennung des Spirochätenleibes in zwei verschieden gefärbte Substanzen, etwa wie bei den Trypanosomen in Kernsubstanz und Plasmaleib, ist nicht möglich; wohl aber boten einige Exemplare in verschieden behandelten Präparaten eine durch stärkeren resp. schwächeren Farbenton ausgezeichnete Differenzierung ihrer Körperelemente dar. Die Giemsa-Präparate einerseits zeigen in

vielen Exemplaren das Vorhandensein stärker gefärbter Körnchen (Fig. 2, Fig. 6) innerhalb des sonst gleichmäßig hellen Protoplasmas. Deutlicher aber wird eine Innenstruktur kenntlich in den mit ZETTSOW's Geißelfärbung behandelten Präparaten (Fig. 8) Fig. B2. An Stellen des Präparates, wo durch Zufall eine nur schwache Ablagerung von Silbersalzen stattgefunden hat, scheint die Spirochäte gelblichgran-durchsichtig von zahlreichen unregelmäßig angeordneten verschieden großen Körnchen erfüllt (Fig. 8 und Fig. B2). An anderen Stellen desselben Präparates imponiert sie infolge stärkerer Imprägnation mit Silbersalz als bedeutend breiteres schwarzgefärbtes Gebilde (Fig. 10—13). Geißeln konnten weder in diesen, noch in anderen nach der LÖFFLER'schen Methode behandelten Präparaten zur Darstellung gebracht werden.



Textfigur B.

Die Differenzierung des Spirochätenkörpers in zwei verschiedene Substanzen zeigen ganz besonders schön solche Präparate, die nach PROWAZEK's (1) Anweisung zur Darstellung der undulierenden Membran durch Eintrocknen in einem Tropfen destillierten Wasser und Färbung nach der LÖFFLER'schen Geißelmethode hergestellt waren und in Fig. 17—20 und Textfig. B abgebildet sind. Die einzelnen Stadien des durch die Einwirkung des destillierten Wassers bewirkten Quellungs- und Mazerationprozesses treten hier vortrefflich in die Erscheinung. Das vom Rande des Präparates, wo das Wasser schnell verdunstete, also am kürzesten einwirkte, stammende, auf ganz reinem Untergrunde liegende Individuum zeigt einen stark gefärbten axialen Teil gleichmäßig umgeben von einem hellen Saum (Fig. 17) Fig. B2. Die Abbildung 18 resp. Fig. B3 ist den mittleren Partien desselben Präparates entnommen; sie zeigt einen starkgefärbten Faden spiralig umgeben von einem vollkommen ungefärbten regelmäßig konturierten Hofe. Hier in der Mitte war die Einwirkung des Wassers von

längerer Dauer und hat so den in Fig. 17 und Fig. B2 zur Darstellung gebrachten gequollenen Saum zur gänzlichen Auflösung gebracht. Oder — auch diese Erklärung ist plausibel — der anfänglich gequollene Saum hat unter der längeren Einwirkung des Wassers Zeit gefunden, sich wieder auf den axialen Faden hin zusammenzuziehen, während der in Fig. 17 dargestellte Saum infolge schnellerer Verdunstung des Wassers am Rande noch im Zustande der Quellung antrocknete. Das Extrem eines solchen Mazerationsvorganges zeigt Fig. 20. Hier ist der starkgefärbte Faden von ganz geringer Breite. Es haften ihm nur noch wenige Reste einer schwach rötlichgefärbten Substanz an. Die zur Färbung verwandte Beize hatte hier einen Zusatz von 1proz. Natronlauge erhalten.

Wie man nun diesen stark gefärbten Faden auffassen will, ob man ihn als axialen Kernfaden bezeichnet, wie er ähnlich von PERRIN (4) bei der *Spirochaeta balbianii* beschrieben wurde, ob man ihn genetisch dem Randfaden der undulierenden Membran der Trypanosomen gleichstellt, ob man ferner den in Fig. 17 abgebildeten Saum Ektoplasma oder Periplast nennen will, ganz zweifellos erhellt aus diesen Bildern, daß die Spirochäte aus zwei verschiedenen Elementen bestehen muß, einem schwer quellbaren und einem diesem anhaftenden oder es umgebenden leicht quellbaren.

Auch ein Giemsapräparat zeigte diese Verhältnisse (Fig. 7). Es stammt aus einem Wassertropfen, in den eine Larve zwecks Erkundung des Schicksals der Spirochäten nach Verlassen des Larvenkörpers 24 Stunden vorher eingebracht worden war. Im frischen Präparat erschienen die Spirochäten abgestorben. In diesem Zustande waren sie der Einwirkung des Wassers wohl schon längere Zeit ausgesetzt gewesen. Auch hier also hatte ein Quellungsvorgang stattgefunden, der sich in dem Auftreten eines hell tingierten Saumes an zwei Stellen des dunkler gefärbten Individuums bemerkbar macht.

Über die Art der Fortpflanzung konnten die bisher gesehenen Bilder keine vollkommene Klarheit geben. Andeutungen einer Querteilung fanden sich niemals. Nur eine einzige Abbildung läßt die Dentung einer beginnenden Längsteilung zu (Fig. 6). Das in seinem Dickendurchmesser bis auf $1\ \mu$ verbreiterte Individuum — der gewöhnliche Dickendurchmesser beträgt $\frac{1}{2}\ \mu$ — zeigt deutlich die stärker gefärbten Ränder, vermutlich die sich zur Teilung ausschickenden neuen Individuen. Es macht den Eindruck, als ob der Spirochätenkörper sich teilt, etwa wie man eine Schnur auseinanderfasern würde. Besonders schön tritt an diesem Bilde das

Vorhandensein von stärker gefärbten Körnchen in die Erscheinung, die an zwei sich genau entsprechenden gegenüberliegenden Stellen gelegen sind. Die Seltenheit eines solchen Befundes spricht wohl dafür, daß eine solche Teilung mit großer Schnelligkeit vor sich gehen muß.

Die Spirochäten, die in den frisch vom Fundort entnommenen Larven in Menge anzutreffen waren, wurden, je länger diese im Laboratorium aufgehoben wurden, desto spärlicher, um schließlich ganz aus ihnen zu verschwinden. Daß sie in das umgebende Wasser ausgeschieden werden und dort rasch zugrunde gehen, lehrt der oben geschilderte Versuch. Daß das Wasser nicht ihr eigentliches Lebenselement ist, beweist wohl auch die Tatsache, daß sie trotz des überaus zahlreichen Vorkommens im Darm der in diesem Wasser lebenden Larve in dem Wasser selbst niemals gefunden werden konnten. Untersuchungen von *Culex*-Puppen, sowohl solchen, die frisch aus der Cysterne entnommen wurden, als auch solchen, die sich im Laboratorium entwickelten, hatten ein negatives Resultat. Daß aber auch Puppen die Wirte der Spirochäte sein müssen, dafür sprach das Auffinden dieser Organismen in den Malpighischen Gefäßen einer im Institutsarten gefangenen Mücke, der einzigen von etwa 100 von verschiedenen Orten stammenden untersuchten Mücken, die einen derartigen Befund aufwies. Ein zweiter derartiger Fall kam durch die Freundlichkeit des Herrn Stabsarzt MÜHLENS zu meiner Kenntnis, der gelegentlich der Präparation einer Mücke dieselben Spirochäten gefunden hatte. Es ist somit sicher, daß ein Übergang der Spirochäte aus der Larve in die Puppe und von dort in die Mücke stattfinden kann. Ob sie wieder auf die Eier der Mücke übertragen werden und damit ihr Vorkommen in den Larven zu erklären ist, ein Vorgang, wie er von R. KOCH für die Erreger des Rekurrens bei der Zecke nachgewiesen wurde, bleibt weiteren Untersuchungen zu günstigerer Jahreszeit vorbehalten.

Literaturverzeichnis.

- 1) MÜHLENS u. HARTMANN: Über *Bacillus fusiformis* und *Spirochaeta dentium*. Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. 1906 Bd. 55.
- 2) PROWAZEK, V.: Morphologische und entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen über Hühnerspirochäten. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 23.

- 3) ZETZNOW: Färbung und Teilung bei Spirochäten. Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Bd. 52 1906.
4) PERRIN: Researches upon the Life-history of Trypanosoma balbianii (CERTES). Arch. f. Protistenk. Bd. 3 H. 1 1906.

Tafelerklärung.

Die Zeichnungen sind sämtlich mit ZEISS' Obj. Apochr. 2 mm und dem Com. Oc. 18 mit dem ARBE'schen Zeichenapparat in Objekttischhöhe entworfen. Vergr. ca. 2500.

Fig. 1—7. *Spirochaeta culicis*, Färbung nach Giemsa.

Fig. 8—13. do., Geißelfärbung nach ZETZNOW.

Fig. 14—16. do., Geißelfärbung nach LÖFFLER.

Fig. 10—20. do., Geißelfärbung nach LÖFFLER, nach vorheriger Mazeration mit destilliertem Wasser.

*Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

Notes sur quelques Flagellés.¹⁾

Par

H. Schouteden (Bruxelles).

(Avec 11 figures dans le texte.)

1. *Dimorpha mutans* GRUBER.

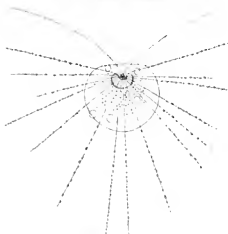


Fig. 1. *Dimorpha mutans*. — Réd. 5/10.

Le *Dimorpha mutans* décrit par GRUBER semble compter parmi les Flagellés les moins répandus; on ne le trouve que rarement cité et en général les exemplaires en sont peu nombreux dans les cultures. BLOCHMANN, je pense, est le seul qui ait pu étudier jusqu'ici de

¹⁾ Notes sur les Organismes inférieurs, 4^e note.

façon convenable cet organisme curieux, à la fois Héliozaire et Flagellate, et dans son travail „Zur Kenntniss von *Dimorpha mutans* GRUB.“ (Biol. Centralbl. XIV p. 197, 1894) il a pu nous donner sur lui des détails fort intéressants, sans toutefois réussir à élucider certains points encore obscurs, les *Dimorpha* n'ayant persisté que quatre jours dans ses flacons.

Examinant au début de novembre, l'an dernier, un liquide provenant du Jardin Botanique de Bruxelles et qui renfermait en quantités énormes *Trachelomonas volvocina*, *Tr. lagenella*, etc., ainsi que mon *Chlamydomonas Willei*, j'eus le bonheur de rencontrer dans une préparation un exemplaire du fameux *Dimorpha*. Puis j'en rencontrai d'autres encore, et en nombre suffisant pour pouvoir faire une étude un peu plus approfondie de sa structure.

L'organisme était relativement assez abondant dans la culture. Pour me le procurer il me suffisait de prélever avec une pipette un peu du dépôt qui se formait au fond du flacon et qui consistait surtout en ramifications d'*Anthophysa*, aisément reconnaissable à l'œil nu à l'aspect bien connu des amas de rameaux brunâtres. Parmi ces rameaux j'étais certain de rencontrer toujours plusieurs *Dimorpha* que je pouvais facilement étudier simultanément. Par contre, dans le liquide même je n'en rencontrai pas flottant à la façon d'un Héliozaire libre.

On pouvait se demander pourquoi les *Dimorpha* se trouvaient toujours parmi les tiges d'*Anthophysa* et n'en étaient pas séparés par les heurts du transport en pipette? Cette question a une réponse fort simple, comme on le verra plus loin: les *Dimorpha* ne sont pas des organismes vivant librement, ils se fixent à un support!

Il est rare que la forme du *Dimorpha* soit sphérique. D'habitude il présente plutôt une forme légèrement allongée transversalement (si l'on oriente vers le haut la face qui porte les flagels); de plus on constate fréquemment que le côté où naissent les flagels est moins convexe que celui qui lui est opposé et qui ne porte que des pseudopodes.

Ceux-ci peuvent irradier tout autour de l'organisme, hérissant toute sa surface, mais il n'est pas rare non plus de trouver des exemplaires chez lesquels les pseudopodes sont plus rares ou même manquent complètement dans la région avoisinant les flagels. Ils sont en nombre variable, sans jamais être serrés, et sont assez régulièrement espacés entre eux. Leur longueur varie également mais ne dépasse pas une fois et demie le diamètre du corps; leur aspect est, comme on sait, ceux des pseudopodes d'Héliozoaires, avec

un fil axial fort net, des granules superficiels. Ils ne sont pas motiles in toto mais peuvent se courber néamoins, ce qui ne s'observe d'ailleurs que fort rarement. Enfin, ils peuvent, comme on l'a déjà décrit, être résorbés par l'organisme, ne faisant plus, on plus guère, saillie à la surface du corps.

Les flagels sont au nombre de deux, mesurant d'une et demie à deux fois le diamètre du corps, assez fins. Ces deux flagels n'ont pas d'habitude un rôle identique, comme on semble l'avoir admis jusqu'ici et comme je l'avais d'ailleurs pensé d'abord. En effet, si dans la préparation que l'on étudie on provoque au sein du liquide un courant même violent, entraînant toutes les particules, tous les organismes libres qu'il renferme, on s'aperçoit que les *Dimorpha* ne sont pas emportés; ou plutôt ils sont entraînés sur un court espace puis s'arrêtent malgré le courant. On a alors exactement l'impression que l'on aurait en plaçant dans un courant d'eau un flotteur que l'on retient à l'aide d'une corde; le flotteur tend à suivre le courant mais il est retenu par la corde. De même on voit le *Dimorpha* rester en place, ballotté de temps à autre à droite ou à gauche par les déviations du courant, heurté par les corps que celui entraîne. Une observation attentive fait aisément découvrir que si l'organisme résiste si bien, c'est qu'il est „ancré“ à l'aide de l'un de ses flagels, fixé soit à la lame soit à un support quelconque: lorsque le courant a commencé à passer, l'organisme n'a été entraîné que sur un court espace, juste la longueur de son lien d'attache, et celui-ci, tendu complètement, l'empêche dorénavant d'être emporté plus loin. . . . Le fait de la fixation étant ainsi découvert, il était aisé d'en faire la vérification sur des individus quelconques, pris au hasard: toujours je les trouvai fixés par l'un des flagels, tandis que l'autre seul battait. Par là s'explique, on le voit, fort aisément, le fait que j'étais toujours assuré de rencontrer des *Dimorpha* dans mes préparations lorsque j'avais soin de déposer dans celle-ci quelques tiges d'*Anthophysa* prises dans le flacon: ces tiges servaient aux *Dimorpha* de support, de lieu de fixation, . . . et de plus les individus d'*Anthophysa* devenaient fréquemment leur proie!

Le flagel jouant le rôle d'ancre s'attache au support par son extrémité ou tout près de celle-ci; la fixation est fort solide, cela ressort clairement de la façon dont l'organisme résiste à des courants même assez forts. A l'état habituel ce flagel n'est pas tendu; il est ondulé, courbé, ne différant pas d'aspect à première vue du flagel actif, d'autant plus qu'on le voit parfois présenter également quelques mouvements, d'ailleurs peu prononcés. C'est ainsi que s'explique tout

naturellement le fait qu'on ne se soit pas aperçu plus tôt que l'un des flagels que l'on observait était fixé. Ce flagel ne diffère pas autrement du flagel libre; je n'ai pu malheureusement m'assurer si les deux flagels peuvent tous deux indifféremment servir à la fixation ou avoir un rôle actif, mais tout me porte à croire qu'il en est ainsi.

Le flagel libre bat dans le liquide, mais ses mouvements ne sont pas fort actifs; le plus souvent il bat lentement et ce n'est que de temps à autre qu'il donne quelques coups plus rapides. Il donne l'impression d'être assez raide et moins souple qu'un flagel de Flagellate ordinaire.

Les pseudopodes sont des pseudopodes typiques d'Héliozaire, à fil axial bien distinct, à revêtement plasmatique peu épais, avec des granules réfringents fort nets: cela à l'état d'extension. A la base des pseudopodes on voit souvent le plasma se soulever en un petit cône d'insertion. Lorsque l'organisme, pour l'une ou l'autre cause, a retiré ses pseudopodes et qu'il les développe à nouveau, on les voit apparaître d'abord comme une simple saillie puis s'allonger peu-à-peu; lorsqu'ils sont courts encore, ils sont couverts de grosses perles de protoplasme, comme on en voit également chez quelques Héliozaïres à l'état normal; mais à mesure que le pseudopode s'allonge, il reprend son aspect habituel, les perles se fondent et disparaissent, et finalement l'organisme a repris sa structure première.

Comme BLOCHMANN l'indique, on voit nettement les fils axiaux des pseudopodes se continuer à travers corps du *Dimorpha* et converger vers un même point brillant, dont nous parlerons plus loin. Lorsque les pseudopodes ont été résorbés, les fils persistent dans le corps de l'organisme, aussi nets toujours.

Les pseudopodes du *Dimorpha* ont les mêmes propriétés que ceux des Héliozaïres. Il n'était pas rare dans mes préparations de voir de petits Flagellates incolores, des *Monas* ou des individus libérés d'*Anthophysa* venir se heurter aux pseudopodes et devenir la proie de l'organisme. Au contraire, les *Trachelomonas* qui étaient si abondants dans ma culture ne semblaient guère avoir à redouter les *Dimorpha*: leur coque les protégeait contre ses atteintes; et si, comme cela se voyait parfois, un *Trachelomonas* venait étourdiment se jeter sur les pseudopodes et si son flagel, fort long comme on le sait, était saisi par ceux-ci, on voyait le Flagellate faire le sacrifice de son flagel et échapper ainsi à son ennemi. Par contre un joli *Chlamydomonas* qui se trouvait dans la même culture (*Chl. Willei* m.) ne réussissait pas toujours à s'échapper et assez souvent on le reconnaissait dans le corps du *Dimorpha*.

Le plasma est assez compact, de teinte pâle, blenâtre légèrement, un peu brillant. Il renferme d'assez nombreux granules brillants et réfringents, de coloration jaunâtre ou verdâtre pâle, qui le plus souvent ne s'étendent pas jusqu'au bord mais laissent libre une large zone marginale. Et le plus généralement on ne les observe pas du côté où s'insèrent les flagels: ils entourent donc le noyau sauf de ce côté. Le noyau est d'ailleurs excentrique.

Le nombre des vacuoles pulsatiles est variable, mais il y en a toujours plus de deux; elles sont semées sans ordre fixe dans le plasma et viennent crever à la surface en divers points du corps. En général on en observe une demi douzaine, dont les pulsations se font toutes les 25 secondes environ, régulièrement. Elles reparaissent à l'endroit même où elles ont disparu. Les vacuoles sont habituellement petites mais parfois aussi elles peuvent devenir assez volumineuses, leur diamètre égalant jusqu'à la moitié de celui du noyau.

Les déchets de la nutrition sont expulsés dans des vacuoles qui viennent crever à la surface du plasma. Comme je l'ai dit, les *Dimorpha* que j'ai étudiés se nourrissaient principalement de petits Flagellés.

La structure du noyau est fort intéressante. BLOCHMANN seul a pu l'étudier de façon assez satisfaisante et il en a donné une description assez complète; mais il n'a pu, les *Dimorpha* ayant disparu de sa culture, élucider certains détails curieux qu'il indique. Ayant eu la chance de pouvoir observer l'organisme durant un temps plus long, j'ai eu soin d'étudier son appareil nucléaire et de tenter de déterminer de façon plus précise sa structure.

Le noyau est déjà visible sur le vivant, plus ou moins nettement suivant les individus. Mais il est aisé à mettre en évidence en tuant l'organisme par une solution d'acide picrique, qui colore le noyau en jaune. On constate alors que la chromatine est rassemblée en une masse épaisse qui en coupe optique apparaît comme un croissant à pointes plus ou moins fortement arrondies et obtuses: en réalité, comme l'observation le fait constater, elle constitue une sorte d'hémisphère (ou segment de sphère plus petit ou aussi plus grand parfois) creux mais à paroi fortement épaissie.

A l'intérieur de cette masse, dans la cavité qu'elle entoure, on voit les axes des pseudopodes, qui traversent le corps, converger en un même point, vers un granule brillant fort net, visible déjà sur le vivant, d'ailleurs, avec un peu d'attention. Et de plus en ce

même point se trouve l'insertion des deux flagels, qui à partir de cette insertion commune au sein du plasma divergent entre eux et sortent du corps en deux points nettement séparés et bien fixes: c'est-à-dire que même lorsqu'un des flagels s'agit vivement, son insertion sur le corps ne se déplace pas et la portion intraplasmatique reste rigide. De même les axes des pseudopodes, nous l'avons dit, subsistent toujours à l'intérieur du plasma, et toujours on voit leurs bases converger vers le granule réfringent en question, qu'a déjà signalé BLOCHMANN, et qui correspond sans aucun doute au Centralkorn des Héliozoaires.

BLOCHMANN est resté assez perplexe devant le fait que les fils axiaux des pseudopodes convergent ainsi à travers le noyau vers un point commun. Il lui paraît peu probable qu'il y ait là un axe continu qui percerait la substance nucléaire.

Et cependant il résulte de mes observations que c'est bien ainsi que doit s'interpréter la structure de l'appareil compliqué de *Dimorpha*. Les fils axiaux que l'on voit converger au sein du plasma traversent complètement la masse chromatique, la traversent — pour m'exprimer plus nettement — et néanmoins ils sont absolument continus et homogènes. On arrive parfois par une coloration appropriée à constater nettement qu'à travers la chromatine les rayons sont absolument réguliers: cet aspect est représenté sur la figure 1, qu'il est superflu de décrire plus longuement. Tout autour de la masse chromatique nucléaire on observe, comme l'a indiqué BLOCHMANN une sorte d'espace vide étroit. Il s'agit là d'un espace séparant la masse chromatique de la membrane nucléaire.

Le corpuscule brillant vers lequel convergent les filaments axiaux n'est pas toujours appliqué contre la masse chromatique, dans la concavité de la coupe ou calotte qu'elle forme; souvent on l'en voit un peu séparé. Sa position se détermine d'ailleurs aisément toujours d'après la direction des axes: en suivant ceux-ci on arrive nécessairement au Centralkorn. Et de même, mais ceci demande un peu plus d'attention, on constate que les flagels s'y insèrent également.

Le fait que les filaments axiaux des pseudopodes et les flagels partent tous du Centralkorn est fort intéressant, comme le remarque BLOCHMANN, car il tend à appuyer l'opinion que flagels et pseudopodes sont au fond la même chose.

Il serait fort important de pouvoir étudier la division nucléaire de *Dimorpha* afin de déterminer le rôle que joue éventuellement le Centralkorn dans cette division.

Le regretté FRITZ SCHAUDINN, on le sait, dans une de ses courtes

mais si intéressantes notes s'est occupé tout spécialement du Centralkorn des Héliozoaires. Dans cette note (Verh. Deutsch. zool. Ges., VI, p. 113), communication faite à Bonn à la Deutsch. zool. Ges. en la séance du 29 mai 1896, il tend à démontrer que le Centralkorn n'est pas autre chose qu'un centrosome. Et de fait il a pu étudier la division nucléaire chez quelques Héliozoaires et constater que dans cette division le Centralkorn joue le rôle d'un centrosome typique . . . Cela pour la division normale de l'Héliozaire, tandis que dans les cas de bourgeonnement le noyau se divise par le procédé direct et sans intervention du corpuscule central. Dans le bourgeon celui-ci n'existe donc tout d'abord pas, et ce n'est que plus tard qu'on le voit apparaître, au sein même du noyau, d'où il émigre ensuite dans le plasma.

Le Centralkorn de *Dimorpha* est-il également une sorte de centrosome? Sa similitude si complète avec celui des Héliozoaires le fait supposer . . . Mais ici se greffe une autre question: dans la division que deviennent alors les flagels?

Les recherches faites dans ces dernières années ont fait constater de façon générale chez les Flagellates que les flagels sont en rapport intime avec le noyau, — comme c'est d'ailleurs le cas déjà pour le *Mastigamoeba pilosa* dont je parle dans ce travail. DANGEARD a soigneusement étudié le fait chez *Polytoma*: le flagel s'insère à la périphérie du corps sur un blépharoplaste, corpuscule fort petit qu'un fin tractus, ou rhizoplaste comme l'appelle DANGEARD, relie au noyau sur lequel il s'attache par un faible épaissement, ou condyle. Contrairement à ce que certains auteurs ont admis, et conformément aux vues de BÜTSCHLI et d'autres, DANGEARD rejette toute identité entre le blépharoplaste et un centrosome. L'analogie des flagels de *Dimorpha* avec ceux des Flagellates fait que l'on doit s'attendre à rencontrer ici le même mode d'insertion, la même union intime avec le noyau par l'intermédiaire d'un rhizoplaste. Et d'autre part on constate qu'ils s'insèrent sur le Centralkorn, véritable centrosome d'après SCHAUDINN . . .

Cette étude délicate eût été fort utile à faire et eût sans aucun doute donné des résultats intéressants, mais je n'eus pas le temps de la mener à bonne fin . . . Au bout de peu de jours en effet, comme chez BLOCHMANN, les *Dimorpha* disparurent de ma culture! Et depuis je n'ai encore pu retrouver l'organisme dans mes récoltes.

2. *Mastigamæba pilosa* (CASH).

Dans un travail paru il y a deux ans dans le Linnean Society's Journal, Zoology, Vol. XXIX p. 218, sous le titre „Ou some new and little-known British Freshwater Rhizopoda“, J. CASH donne la description, accompagnée d'une figure (pl. 26 fig. 8) d'un organisme fort curieux qu'il appelle *Amæba pilosa* sp. n. Voici ce qu'il en dit:

„Animal resembling an average-sized *A. villosa*, with the same pale-bluish or neutral-tinted finely granular endoplasm, and containing, as in that species, a variety of food-corpuscles, mostly green, together with refringent yellowish or brownish oil-like globules. Nucleus pale, situated in the anterior region; contractile vesicles one or more.

The posterior extremity is produced into a delicately fringed expansion of faintly granular ectoplasm, in which are usually one or two clear vacuoles, the external outline being irregular and occasionally lobate. Including this posterior expansion, the entire body of the animal is closely beset with rigid hair-like processes, or spicula, radiating outwards, and resembling those which clothe the membranous test of *Cochliopodium vestitum*. This latter character distinguishes *A. pilosa* from all other forms of *Amæba*. Locomotion is effected by lobular expansions of the ectoplasm, anterior or lateral. As in *A. proteus* or *A. villosa*, the pseudopodia may originate at any point on the body-surface, but have never been observed to become digitate.

Dimensions: length about 180 μ ; average breadth 50 μ .

... It is difficult to explain either the origin of the spicula which invest the body of this *Amæba*, or their mode of attachment to the soft protoplasmic surface over which they are very evenly, and at the same time thickly, distributed. Immediately a pseudopodal lobe is formed, the cil-like processes flow over it from the surrounding surface.

... The Fearnhead examples presented some differences of habit, though agreeing in the pilose character. They were probably older individuals. The spicula were usually stouter and darker in colour;



Fig 2.
Mastigamæba pilosa.
Réd. $\frac{1}{10}$.

the endoplasm was denser; the posterior appendage was absent, and the animal was more sluggish in its movements."

Cette même description a été reproduite, avec quelques changements insignifiants, dans le volume I des *British Freshwater Rhizopoda* de CASH, publié l'an dernier par la Ray Society de Londres (p. 62 pl. IV fig. 1—5).

Comme on peut le voir, cette description n'est guère détaillée et manque de détails sur certains des points les plus intéressants: insertion des spicules, motif de la localisation du noyau en région antérieure, etc. Il était donc vivement à désirer que l'étude de cet organisme peut-être reprise et complétée.

Etudiant l'an passé chez M. le Prof. MASSART à Coxyde près Nieuport, sur la côte belge, les Protistes qui se rencontraient dans une mare située au milieu des dunes et dite „Mare-aux-Canards", je rencontrai un beau jour dans une préparation un organisme curieux qui me rappela immédiatement la figure publiée par CASH; l'aspect général et le mode de locomotion faisaient en effet songer à une amibe, mais une amibe toute couverte de sortes de soies raides, de spicules comme les appelle CASH.

Cet unique exemplaire fut malheureusement vite perdu, et je craignais déjà devoir renoncer à retrouver cette espèce énigmatique, lorsque dans l'un de mes flacons, contenant le sédiment du fond de la mare je la rencontrai à nouveau, en plusieurs exemplaires! Je m'empressai naturellement d'étudier l'organisme, qui m'intéressait surtout à trois points de vue:

En premier lieu, la localisation du noyau dans la région antérieure du corps de façon constante, persistant même durant la progression, était assez étonnante chez une amibe. En règle générale en effet chez les amibes le noyau se loge plutôt dans la région postérieure, et s'il est entraîné vers l'avant par le courant plasmatique, il ne tarde pas à être reporté vers l'arrière; ou si parfois il se maintient dans la région antérieure dans ce cas on le voit en quelque sorte être secoué sans cesse par le courant plasmatique qui le pousse vers l'avant: or ici le noyau est parfaitement fixe, immobile. Il était donc intéressant de déterminer le motif de cette localisation antérieure et aussi de cette immobilité (relative, comme nous le verrons) assez inattendue.

En second lieu, la structure des spicules demandait à être étudiée plus en détail que ne l'a fait CASH, et leur mode d'insertion devait être déterminé.

Enfin l'organisme présentait un intérêt tout spécial pour moi à un tout autre point de vue: au point de vue de la locomotion. On sait en effet que JENNINGS a émis, il y a quelques mois, une nouvelle théorie pour expliquer la progression des Amibes: elle se ferait par rotation de l'organisme sur lui-même et non pas par émission de plasma à l'avant, comme le décrit RHUMBLER par exemple, en suite d'une diminution locale de la tension superficielle. Comment se faisait la progression chez l'*A. pilosa* de CASH? S'il y avait réellement rotation, comme JENNINGS le croit — et comme j'ai déjà dit, dans un autre travail paru dans cette revue, ne pouvoir l'admettre, — il est de toute évidence que cette amibe était un type idéal pour le démontrer. En effet la surface en est couverte de spicules extrêmement faciles à suivre, et dans le cas d'une rotation de l'amibe *in toto* on devait aisément les voir se déplacer dans le même sens que tout l'organisme, et passer successivement à la face inférieure du corps. Ce point était donc fort intéressant puisqu'il permettait de trancher définitivement la question!

De plus la structure du noyau était à élucider, CASH ayant négligé de nous décrire cet organe, si important pour la détermination des espèces du genre *Amaba*.

A ces divers points de vue j'ai donc étudié les spécimens que j'ai pu découvrir et je suis arrivé ainsi à quelques résultats assez intéressants que je vais exposer.

Dans les premiers temps où j'observai l'*Amaba pilosa* je la voyais telle que CASH l'a décrite, progressant lentement à l'aide de pseudopodes lobés antérieurs. — Mais à d'autres moments on la voyait se détacher du support et, devenue libre dans le liquide, s'agiter irrégulièrement, tout en ne développant plus de pseudopodes. Comment expliquer ce mouvement? La question au premier abord paraissait assez embarrassante!

Mais lorsque j'eus trouvé de nouveaux spécimens de l'*Amaba* et qu'à l'aide de forts grossissements je commençai à l'étudier, j'eus bientôt le mot de l'énigme. Je ne tardai en effet pas à m'apercevoir que l'organisme possédait un long flagel, et lorsqu'il se détachait du support il se déplaçait tout simplement grâce aux battements de ce flagel! L'*Amaba pilosa* de CASH était en réalité un *Mastigamaba*! Dorénavant l'espèce devra être rangée dans ce dernier genre sous le nom de *M. pilosa* (CASH).

L'organisme peut donc se déplacer suivant deux modes différents: soit en rampant comme une Amibe, soit en nageant comme un

Flagellate. J'examinerai plus loin plus en détail ces deux modes de locomotion.

Le flagel de *M. pilosa* est un long filament, assez peu visible même au repos, dont la coupe n'est pas circulaire mais un peu aplatie; sa longueur égale environ deux tiers de la longueur de l'organisme (à l'état de reptation normale, dans un sens donné). Il est toujours antérieur, même durant la progression amiboïde, durant laquelle il est simplement un peu reporté sur le côté. Au repos il est rare qu'il soit complètement immobile: en règle générale il se meut toujours faiblement, nonchalamment pourrait-on dire, effectuant des ondulations peu marquées. Lorsque l'organisme passe à la natation, au contraire, le flagel bat avec force et ce sont ses battements qui impriment au *Mastigamaba* ces secousses qui m'avaient intrigué lorsque je commençai à l'observer. La natation est d'ailleurs irrégulière et peu rapide, et bientôt elle fait à nouveau place à la reptation, qui semble le mode préféré de progression de l'organisme.

Il était tout indiqué de tâcher de découvrir le mode d'insertion du flagel dans le corps, de rechercher la cause de sa localisation antérieure persistante. Et bientôt je découvris à la fois la raison de cette localisation et celle de la localisation identique du noyau: le flagel se continuait en effet directement avec celui-ci, son point d'insertion représentant une sorte de petit cône saillant à la surface de la membrane nucléaire. Par suite il était évident que le flagel devait suivre tous les déplacements du noyau, et vice-versa naturellement!

Cette union directe du flagel et du noyau est chose fort intéressante, quoique ce ne soit pas la première fois qu'on l'indique chez un *Mastigamaba* même. Dans le cas actuel elle est extrêmement nette et ne peut laisser aucun doute dans l'esprit le plus sceptique. J'ai dessiné à la chambre claire d'ABBE (obj. imm. ZEISS $\frac{1}{12}$, ocul. apochr. 12) le noyau et la base du flagel d'un *Mastigamaba pilosa*, que je reproduis ici: le spécimen avait été fixé par IKI, avec coloration nette du noyau par ce réactif. Sur cette figure on voit également quelle est la structure du noyau: c'est une vésicule assez volumineuse, subsphérique, présentant une grosse masse chromatique interne sphérique entouré d'une large zone de nucléoplasme limitée en dehors par une membrane nucléaire fort nette. C'est celle-ci qui se continue en un point avec le flagel, comme je l'ai dit plus haut, formant à sa base un petit cône d'insertion net. Entre la base du flagel, c'est-à-dire son insertion sur la membrane nucléaire et la masse chromatique interne je n'ai pu percevoir un lien; mais je

dois ajouter que je n'ai pu faire agir sur l'organisme les réactifs colorants nécessaires pour mettre éventuellement mieux en évidence un tel lien.

Puisqu'ils sont intimement unis et forment complexe unique, il est clair que flagel et noyan ne pourront que se déplacer simultanément, l'un suivant fatalement l'autre. Mais cela ne nous explique encore pourquoi durant la reptation le noyau et le flagel — dont l'un est interne et l'autre externe par rapport au corps — restent localisés à l'avant, alors qu'on s'attendrait alors à les voir reportés en arrière, comme c'est le cas chez d'autres *Mastigamaba*. A priori il y avait tout lieu de supposer qu'il y avait là un obstacle empêchant le déplacement du complexe noyau-flagel, les immobilisant à l'avant. Et cette supposition était bien exacte et se vérifie aisément sous les forts grossissements que j'ai employés.

Mastigamaba pilosa possède en effet une cuticule fort nette sous un fort grossissement et paraissant assez résistante, et c'est la présence de cette cuticule superficielle qui immobilise le flagel, et par conséquent aussi le noyau, en un point donné et les maintient à l'avant. Lorsque l'organisme, rampant, émet un pseudopode antérieur, comme une amibe, on voit se produire les mêmes phénomènes que RHUMBLER a décrit chez *Amaba limicola* (à part que la cuticule est moins résistante). Au point où est émis le pseudopode la cuticule disparaît, elle se trouve largement si l'on peut s'exprimer ainsi et livre ainsi passage au plasma fluide qui passe au dehors et recouvre aussi la zone externe voisine du point qui a cédé. Un court instant on voit la cuticule persister, là où elle est recouvert par le plasma, puis elle s'efface, cependant qu'une cuticule nouvelle se différencie sur la surface externe nouvelle. Le phénomène est aisé à observer, les pseudopodes étant courts et l'émission de plasma ne se faisant pas de façon continue dans un même sens mais par jets en quelque sorte, comme chez *A. limicola*.

Comme je l'ai dit, les pseudopodes se forment généralement à l'avant, plutôt un peu latéralement, c'est-à-dire à côté du flagel. Or nous venons de voir que durant un instant la cuticule subsiste sur la surface voisine du point d'émission puis se dissout. On voit donc le flagel cesser d'être antérieur — le pseudopode passant à l'avant, — puis brusquement, lorsque disparaît la cuticule qui le retenait, le complexe flagel-noyau est reporté antérieurement, évidemment entraîné par le courant plasmatique; et le même phénomène se reproduit tant que dure la progression amiboïde. Latéralement et en arrière la cuticule subsiste au contraire bien nette. — Lorsque

l'organisme cesse de ramper, elle se reforme assez rapidement là où elle avait été résorbée.

Le plasma interne est assez fluide, comme on peut facilement le constater, les granulations qu'il renferme étant entraînées rapidement par le courant protoplasmique et se déplaçant aisément. Il a une très légère teinte bleuâtre, grisâtre aussi, et renferme d'assez nombreux granules jaunâtres — correspondant évidemment à ceux que CASH appelle „oil-like“ — et qui sont sans nul doute identiques à ceux que l'on rencontre habituellement dans les Amibes, produits de désassimilation probablement. En outre, le plasma présente de fines granulations fort abondantes mais peu visibles, qui contribuent vraisemblablement à lui donner sa coloration.

Les individus que j'ai pu étudier ne renfermaient en règle générale que de rares vacuoles alimentaires, dans lesquelles on reconnaissait des Algues à un stade plus ou moins avancé d'assimilation. Je n'ai pas assisté à la capture d'une Algue par l'organisme. Mais je l'ai vu entonner complètement sur une certaine longueur, s'étirant alors parfois de façon considérable (jusqu'à atteindre trois fois sa longueur normale), de longs filaments non nutritifs qui se rencontraient dans la préparation; l'organisme formait en quelque sorte manchon autour du filament qui le traversait de part en part . . .

Le corps renferme une vacuole contractile de taille moyenne, entraînée par le plasma, et qui semble avoir une tendance à rester dans les régions antérieures; elle pulse à intervalles assez espacés. En outre on en rencontre souvent une deuxième se développant déjà alors que la première n'a pas encore disparu. Le plasma renferme de plus quelques vacuoles non contractiles de petite taille.

Durant la reptation l'organisme offre antérieurement une zone hyaline pas fort large, bien nette, formée par les pseudopodes qui s'étalent; durant la natation cette zone disparaît, en même temps que la cuticule redevient complète. À l'arrière il y a une queue peu développée mais cependant bien différenciée, se présentant sous forme d'un amas irrégulier plus dense, de largeur un peu supérieure à celle du corps en avant d'elle; on y rencontre fréquemment des vacuoles renfermant des résidus alimentaires ou des loges de Diatomées, etc. Je n'ai pu assister à la défécation.

Tout le corps est couvert de ce que CASH appelle des spicules, nom qu'on peut conserver à la rigueur bien que prêtant peut-être à confusion. Ce sont des sortes de soies, d'épines raides, assez fines, implantées à la surface du corps, tant à l'avant et sur la queue

que sur le reste de l'organisme durant la natation; ils sont plus ou moins abondants (la figure n'en montre qu'un petit nombre). Durant la reptation la surface adhérant au substrat de même que les pseudopodes servant actuellement à la progression ne présentent pas de spicules, mais dès que les pseudopodes passent au second rang ceux-ci viennent les couvrir également, voici de quelle façon. Les spicules ont une structure curieuse: ce sont des épines droites, rigides, allant en s'amincissant graduellement vers l'apex, et qui à la base se terminent par une sorte de corpuscule arrondi, de même largeur qu'elles à peu près mais subsphériques. L'épine est implantée dans la cuticule dont nous avons parlé, mais la base arrondie se trouve immédiatement sous celle-ci: la cuticule n'englobe donc pas la base même du spicule, mais par suite de sa rigidité le maintient néanmoins. Lorsqu'un pseudopode se forme à l'avant, nous avons indiqué plus haut ce qui se passe: la cuticule voisine du point de formation du pseudopode et qui est recouverte par celui-ci se conserve d'abord intacte, retenant donc les spicules en place; puis elle est résorbée et met alors brusquement en liberté ces derniers. On les voit être entraînés vers l'avant actuel par le plasma, qui n'englobe que leur base. Et comme nous l'avons vu, la cuticule se reforme bientôt à la partie antérieure, fixant donc de nouveau les spicules. — Dans certains individus, plus jeunes sans doute, les épines sont incolores, pâles, tandis qu'ailleurs ils prennent une teinte sombre, brunâtre, comme *Casli* le signale pour les exemplaires qu'il a recueillis à Fearnhead. — Sur la queue les spicules sont plus serrés d'habitude et en coupe optique constituent une sorte d'auréole.

Comme on a déjà pu le constater par ce que j'ai dit de la fixité du flagel et des épines, fixité due à la présence d'une cuticule, la réponse à la troisième question que je m'étais posée est tout indiquée. L'organisme ne roule pas sur lui-même comme *JENNINGS* a cru devoir l'admettre pour les Amibes qu'il a observées. On peut facilement suivre pendant un certain temps l'un des spicules, et jamais on ne le voit se déplacer graduellement vers l'avant puis passer à la face inférieure du corps, comme on peut parfois le voir en suivant un corpuscule étranger adhérant à la surface de certaines Amibes. Et de même la position du flagel reste fixe, on ne le voit pas se déplacer autour du corps. Or, je l'ai dit, flagel et spicules font en quelque sorte corps avec la pellicule dans laquelle ils sont „enchassés“, et si cette cuticule présentait un mouvement de rotation, ils devraient fatalement en faire de même. C'était la démonstration la plus idéale que l'on put concevoir. Or ce déplacement ne s'observe

pas, et l'on peut donc en toute sûreté conclure qu'il n'y a pas, de rotation de l'Amibe in toto. Cette observation suffit, ce me semble, à renverser la théorie émise récemment par JENNINGS, et l'on peut affirmer que l'Amibe ne roule pas sur elle-même. Son mode de progression, je l'ai déjà dit, doit être interprété autrement, et je compte revenir sur ce point. Il était intéressant cependant de constater ici déjà le fait.

Il n'est pas à craindre, je pense, qu'on fasse l'objection que dans le cas actuel il s'agit d'un *Mastigamaba* et non d'une *Amaba* vraie! Les deux genres sont en effet si voisins et l'on a toujours admis si spontanément — et à bon escient d'ailleurs — la similitude absolue de leur mode de reptation, qu'il est même superflu de s'arrêter à cette idée. Si, comme cela s'observe parfois chez les *Mastigamaba*, *M. pilosa* abandonnait à certain moment son flagel, on aurait alors devant soi une Amibe typique, mais couverte d'épines, et l'on pourrait encore faire les mêmes observations.

Comme on voit, *Mastigamaba pilosa* est un organisme intéressant à plus d'un point de vue. Il serait à désirer que l'on pût découvrir l'origine de ces épines déjà si différenciées qui lui donne son aspect typique, et aussi que l'on découvre leur nature exacte. Les exemplaires que j'ai observés étaient malheureusement trop rares pour que je pus tenter cette étude, qui demandait d'ailleurs des ressources microchimiques dont je ne disposais pas. — Je n'ai non plus pas eu la chance de rencontrer des individus en voie de division.

3. *Dendromonas laxa* (KENT).

Sous le nom de *Anthophysa laxa* SAVILLE-KENT a décrit et figuré dans le Monthly Microscopical Journal de 1871 un Flagellate incolore formant des colonies ramifiées dichotomiquement. En 1880 il établit pour lui dans son Manual un genre nouveau, *Cladonema*, qu'il place près de *Dendromonas* STEIN. Dans ses Protozoa, BÜTSCHLI a réuni sous un seul nom *Dendromonas* et *Cladonema*, et son exemple a été suivi par SENN dans ses Flagellata (ENGLER u. PRANDTL, Die natürl. Pflanzenfam., I).

Cependant *Dendromonas laxa* n'a pas été revu par ces auteurs, qui s'en réfèrent à ce qu'en dit KENT, et l'espèce semble n'avoir plus été étudiée depuis sa description. Ayant eu l'occasion de l'observer en détail je pense qu'il peut être utile de publier ici quelques

notes relatives à cet organisme et quelques dessins plus précis que ceux que nous donne l'auteur anglais.

Les premières colonies qu'observa KENT ne comprenaient que trois ou quatre individus; plus tard il put en étudier qui en comptaient plus de vingt. Ce chiffre n'est nullement un maximum et le nombre des individus peut être bien plus considérable. Mais il arrive fréquemment alors, la colonie étant assez grande et fragile que lorsqu'on étudie ses préparations on n'en trouve que des fragments, l'arbre qu'elle forme s'étant décomposé en plusieurs colonies-filles.

J'ai eu la chance de pouvoir étudier facilement

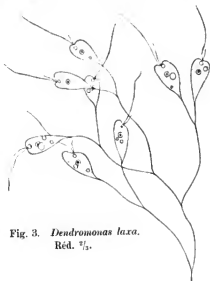


Fig. 3. *Dendromonas laxa*.
Réd. $\frac{2}{3}$.



Fig. 4.

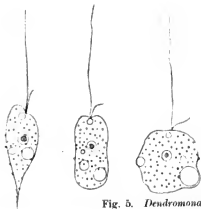


Fig. 5. *Dendromonas laxa*. — Réd. $\frac{9}{10}$.

le *Dendromonas laxa* car il s'était abondamment multiplié, au milieu d'une mince pellicule formée de Bactéries et autres organismes

inférieurs qui s'était développée à la surface d'une de mes cultures. En transportant dans une préparation une portion de cette pellicule je rencontrais à coup sûr le Flagellate.

KENT n'ayant observé que de petites colonies (ou fragments de colonies?) n'a pu étudier les ramifications anciennes. — Dans la pellicule qui me fournissait mon matériel, je rencontrais de nombreux filaments, plus ou moins ondulés, d'épaisseur variable, de coloration brunâtre plus ou moins accentuée suivant l'épaisseur des filaments. Ces filaments, rappelant assez bien par leur coloration et leur aspect général les tiges bien connues d'*Anthophysa vegetans*, m'intriguèrent pendant quelque temps. Mais je ne tardai pas à m'apercevoir, en suivant leur trajet, qu'il ne s'agissait pas de filaments simples: on constatait en effet qu'ils se ramifiaient dichotomiquement, la ramification étant surtout nette pour les filaments moins épais. Et en les suivant plus loin encore on les voyait devenir de plus en plus minces et aboutir finalement aux individus de *Dendromonas laxa* formant la colonie. Les filaments ou plutôt les ramifications de divers âges de la colonie constituaient ainsi en se superposant une sorte de feutrage, peu serré d'ailleurs; la figure 4 représente une partie de ce feutrage tel qu'il se présente au microscope, on y voit notamment un rameau fort épais et coloré en brun contrastant avec les rameaux grêles et encore incolores voisins.

Comme l'a dit KENT, la ramification est dichotomique, et la dichotomie n'est pas régulière. La figure 3 est la reproduction d'un dessin fait à la chambre claire d'ABBE, oculaire compensateur 12, objectif à immersion homogène 2.0 ZEISS. Nous y voyons nettement que les rameaux se divisent dichotomiquement; mais les branches-filles ne se bifurquent pas nécessairement de la même façon ni au même niveau. Des deux branches nées d'une bifurcation l'une peut s'être divisée plusieurs fois tandis que l'autre ne porte encore que deux individus. De même les points de bifurcation ne se trouvent pas à des distances déterminées, égales entre elles on a peu près: ces distances varient même assez notablement parfois. Mais il est fort rare qu'elles soient de longueur moindre que la longueur des individus normaux de *Cladonema laxa*: les rameaux ultimes, portant les Flagellates sont presque toujours à peu près aussi longs que ceux-ci. — De la figure 5, planche XVII, publiée par KENT il semblerait résulter que des deux branches d'une bifurcation l'une peut se ramifier plusieurs fois tandis que l'autre est représentée par une unique cellule, sans pédicelle même. Ce cas ne s'est jamais présenté dans les nombreuses préparations que j'ai étudiées; il s'agit

très probablement d'inexactitudes de dessin, assez fréquentes dans le Manual!

Chaque individu de la colonie offre la structure que voici. L'organisme est obpyriforme (fig. 5a), ressemblant assez bien à l'*Anthophysa elegans*; en arrière il va en se rétrécissant graduellement, en s'effilant, et il se continue ainsi insensiblement avec le pédoncule, qui est évidemment formé par différenciation du protoplasme ainsi étiré en un filament fort délicat (que le dessin représente fatalement trop épais!). Antérieurement la cellule est coupée tantôt obliquement tantôt plutôt transversalement: ce dernier cas est plus rare. D'un des côtés la troncature se prolonge d'ordinaire en une petite saillie ou „rostre“, comme on l'observe également chez *Anthophysa*, l'autre côté étant plus obtus; entre les deux, au fond d'une dépression peu accentuée, se trouve l'insertion des flagels. Sur la figure on peut déjà voir que la face „dorsale“ de l'organisme, celle correspondant au rostre, est moins convexe que la face „ventrale“, qui lui est opposée; mais ce n'est pas règle absolue, bien entendu.

Le plasma renferme des granulations réfringentes assez nombreuses, légèrement verdâtres ou jaunâtres que l'on retrouve aussi adhérent à la surface externe. — On rencontre, localisées de préférence dans la partie postérieure du corps, des vacuoles alimentaires en nombre variable, deux ou trois d'habitude; elles viennent crever en un endroit quelconque à la périphérie. Ce sont évidemment ces vacuoles que KENT a pris pour des vacuoles contractiles, car d'après lui la vacuole pulsatile se trouve dans la partie postérieure du corps. Or il n'en est rien et il n'est guère difficile de découvrir l'unique vacuole contractile dans la région antérieure près de l'insertion des flagels. — Le noyau n'est pas facile à distinguer sur le vivant: il est localisé un peu avant le milieu de la cellule; sa forme est sphérique, il renferme un corps chromatique arrondi entouré d'une large zone pâle.

Les flagels sont au nombre de deux, l'un long, l'autre court. La longueur du premier égale de une fois et demie environ à deux fois celle du corps. Le second, que l'on distingue déjà assez facilement sur le vivant, égale ordinairement le cinquième à peu près du précédent.

En somme l'aspect des individus pris isolément est assez semblable à celui des *Anthophysa*, des *Monas*, etc. L'organisme se rencontre comme eux dans les milieux riches en Bactéries, dont il fait sa nourriture.

Avec *Anthophysa* le *Dendromonas laxa* a un autre caractère en commun. On sait que lorsqu'on place dans le champ du microscope une colonie d'*Anthophysa vegetans*, on ne tarde pas à voir les agglomérations sphériques de Flagellates qui terminent les rameaux, se détacher de ceux-ci et nager librement dans la préparation; tantôt les individus restent réunis, tantôt l'association se désagrège et les différents individus sont mis en liberté.

De même lorsqu'on observe au microscope une colonie de *Dendromonas laxa* en l'éclairant fortement, on voit bientôt les Flagellates se séparer de leur pédicelle et se mettre à nager librement. Lorsque l'organisme se détache, la séparation se fait un peu avant le niveau où se termine le pédicelle, ou pour mieux dire, un peu avant l'endroit où celui-ci se continue nettement en le corps. En se séparant le Flagellate emporte donc, semble-t-il, le sommet du pédicelle, en réalité la partie inférieure la plus étirée du corps, non encore différenciée. La figure 5a le représente un individu venant de se détacher de la colonie.

Mais, comme c'est le cas également pour *Anthophysa*, l'organisme, devenu libre, ne conserve pas cet aspect pyriforme, étiré en arrière. Peu-à-peu cette sorte de queue est résorbée, l'extrémité postérieure s'arrondit et le Flagellate prend une forme plutôt cylindrique, les deux bords étant obtus: c'est ainsi que le montre la figure 5b. Enfin il peut finalement s'arrondir de plus en plus et prendre une forme subsphérique, tout comme un *Monas*: la figure 5c le représente sous cet aspect, l'une des vacuoles fait fortement saillie à la surface du corps.

Le *Dendromonas laxa* constitue évidemment une des formes les plus simples de la colonie chez les Monadacés. On peut se le représenter comme un *Monas* qui s'est fixé et dont les descendants nés par division longitudinale sont restés associés mais en différenciant un pédicelle chacun pour soi. Je ne connais pas le genre *Dendromonas* de STEIN autrement que par les descriptions et figures qui en ont été publiées, mais il semble bien que BÜTSCHLI soit dans le vrai en réunissant *Dendromonas* et *Cladonema*, bien que le caractère du *D. virgaria* que tous les individus de la colonie se trouvent en un même place horizontal soit assez curieux.

J'ai trouvé en abondance ce Flagellate dans une culture renfermant des *Sphagnum* rapportés de Genck, dans la Campine limbourgeoise. Il se trouvait probablement sur les feuilles de ceux-ci et s'est peu-à-peu multiplié, formant alors à la surface le réseau ou feutrage dont j'ai parlé plus haut.

Il y a peu de temps j'ai en l'occasion de voir un *Dendromonas* qui m'a paru voisin du *D. laxa* mais bien distinct néanmoins; je n'ai pu l'étudier de façon détaillée malheureusement jusqu'ici. C'était une forme à individus plus petits, pédicelles bien plus longs et plus délicats.

4. *Clautriavia mobilis* MASS. et *Cl. parva* sp. n.

M. le Professeur MASSART, mon ancien maître et initiateur dans l'étude des Flagellates a décrit en 1900, dans le Bulletin de la Société des Sciences médicales et naturelles de Bruxelles (58^e année, p. 133—134), un curieux Flagellate qu'il rapporte au groupe des Anisomémes et qui est fort intéressant en ce qu'il possède non pas deux flagels, comme c'est la règle générale dans ce groupe, mais un seul, correspondant au flagel postérieur des autres genres. La publication dans laquelle a paru la notice de M. MASSART étant assez peu répandue, il n'est pas étonnant qu'elle semble avoir passé inaperçu et que le Zoological Record notamment ne cite pas le *Clautriavia mobilis*. Il est donc, je pense, intéressant de reproduire ici la description donnée par M. MASSART ainsi que la figure qui l'accompagne (fig. 6).

«Le corps est long de 18—20 μ , large de 12—13 μ , épais de 6—7 μ . Il est entouré d'une membrane rigide, à double contour apparent. La bouche (*b*) est antérieure et ventrale; elle se continue en arrière par un pli longitudinal médian. Le fouet unique part du fond de la bouche et se dirige en arrière. Le noyan (*n*) est à gauche (à droite en réalité, d'après la figure, qui représente le Flagellate vu par la face ventrale), près du bord postérieur.

L'organisme se nourrit principalement de Flagellates verts et de zoospores d'Algues, dont il s'incube le contenu; l'ingestion d'une seule cellule d'Algue donne plusieurs vacuoles alimentaire (*v. a.*). En outre, il y a dans les cellules de nombreux grains réfringents, incolores, qui sont probablement du paramylon.

Ce Flagellate ne nage pas librement dans le liquide: il s'appuie

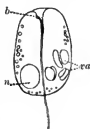


Fig. 6.
Clautriavia mobilis.
Réd. $\frac{9}{10}$.



Fig. 7.
Clautriavia
parva.

avec son fouet contre un objet résistant et se pousse en avant par des mouvements saccadés qui le jettent alternativement à droite et à gauche. Le fouet unique semble donc représenter, fonctionnellement et morphologiquement, le fouet trainant (*pulsellum*) des Anisonémés.

Quand un individu est suffisamment repu, il s'arrête pour se diviser pendant la digestion; ces individus fixés ne sont jamais eucystés. La division est longitudinale; la bouche primitive s'efface et les nouvelles bouches se forment sur les faces opposées (contigues) des deux jeunes individus.

Je crois pouvoir considérer cet organisme comme un Flagellate Anisonémé qui a perdu le fouet antérieur"

Le *Claudriavia mobilis* fut découvert parmi des Algues recueillies par le regretté Professeur LEO ERBERA à Nieuport, sur la côte belge, dans un fossé d'eau douce.

Etudiant l'au passé chez M. MASSART une récolte d'Algues faite à Nieuport également mais dans un fossé renfermant de l'eau saumâtre, bien connu des botanistes belges sous le nom de „fossé aux Ruppia“, j'ai eu la chance d'y rencontrer quelques rares exemplaires d'un minuscule Flagellate qui me rappela aussitôt la description donnée du *Claudriavia*. En les étudiant j'ai pu déterminer quelques points que MASSART n'avait pas élucidés pour son espèce.

La figure 7 représente mon Flagellate vu de dos, c'est-à-dire rampant sur la lame de préparation; la figure 6 . . . est la reproduction de celle qu'a publiée MASSART et montre le *Cl. mobilis* vu par la face ventrale, rampant donc sur le Deckglass. Les deux figures ont été faites au même grossissement: obj. apochr. ZEISS imm. 2.0, oc. compens. 12, appareil à dessiner d'Abbe. Leur comparaison montre qu'il s'agit évidemment d'organismes fort voisins mais qui cependant se distinguent l'un de l'autre par divers caractères. Le *Cl. mobilis* de MASSART est notablement plus grand, sa forme est plus allongée. à côtés latéraux subparallèles on pen convergents en avant, tandis que chez mon espèce il est fort nettement plus large en arrière; en avant le *Cl. mobilis* est coupé peu obliquement, mon *Claudriavia* l'est de façon prononcée; le *Cl. mobilis* présente un sillon ventral net, manquant chez mes spécimens; enfin le flagel de *Cl. mobilis* ne dépasse le corps en arrière, que de la moitié de la longueur de celui-ci, tandis que mon espèce possède un flagel fort long, à peu près quatre fois aussi long que le corps. Ces caractères, les principaux ressortant de la comparaison des figures, font voir que les *Claudriavia* étudiés par MASSART et par moi ne sont pas identiques, et pour l'espèce

que j'ai observée je proposerai le nom de *Clautriavia parva*. En voici la description:

L'organisme est de forme ovoïde, nettement rétréci en allant vers l'avant; sa plus grande largeur est près de l'extrémité postérieure. Celle-ci est coupée obliquement, pas très fortement d'ailleurs, les angles étant largement arrondis, l'angle gauche à peu près droit. Le bord gauche est à peu près rectiligne jusque près de l'avant, le bord droit est fortement courbé en dehors, convexe donc; lorsque l'organisme progresse, le bord gauche est presque parallèle au flagel, le bord droit est convexe et se continue obliquement jusqu'à la rencontre du bord gauche, sous un angle arrondi; la cellule paraît ainsi coupée fortement obliquement en avant, à droite. La largeur n'est pas beaucoup inférieure à la longueur; l'épaisseur égale environ un quart de la longueur. La membrane superficielle est rigide, la forme du corps fixe.

La bouche est antérieure et ventrale; elle se trouve près de l'angle antérieur gauche et représente une simple dépression semblable à celle des *Petalomonas*; elle n'est pas continuée en arrière en un sillon net comme c'est le cas chez *Cl. mobilis*. Près de la bouche, à gauche, se trouve le système vacuolaire (que MASSART n'avait pas observé) et qui est constituée d'une vacuole pulsatile assez petite se vidant dans un "réservoir" plus grand. Dans la région postérieure du corps, vers la gauche, est logé le noyau, assez volumineux, sphérique.

Le corps renfermait dans les quelques individus étudiés de nombreuses vacuoles alimentaires, provenant de l'absorption de cellules d'Algues que je n'ai pu déterminer; je n'ai pu observer la préhension de la nourriture. En outre j'ai également constaté, comme chez *Cl. mobilis*, la présence de granules plus ou moins nombreux, réfringents, incolores, produits de la nutrition vraisemblablement.

Le flagel est, je l'ai dit, unique et correspondant au flagel postérieur des Anisonémées, comme le dit MASSART. Il n'est pas logé dans un sillon à la face ventrale du corps; il naît à la partie postérieure de la bouche et se dirige en arrière. Sa longueur égale en général environ trois fois celle du corps; il est assez épais mais moins cependant, proportionnellement bien entendu, que celui de certains *Anisonema* par exemple.

Durant la progression, l'organisme n'est pas "couché" sur le substrat: il ne s'y applique que par son extrémité antérieure, comme le font en général les *Petalomonas*, la cellule prenant une orientation oblique ou même presque verticale par rapport au substrat, le flagel

par contre traîne sur toute sa longueur. Ce flagel ne semble pas servir à la progression, l'organisme avançant par saccades, comme le décrit MASSART, en se jetant alternativement à droite et à gauche.

Je n'ai pu observer la division chez les spécimens étudiés.

Quant à la parenté de *Clautriavia* je crois avec MASSART que ce curieux genre doit être classé parmi les Anisonémés. Ce serait en quelque sorte un type qui a perdu le flagel antérieur que possède tous les genres qui constituent ce groupe. — L'organisme n'est pas sans quelque analogie avec les *Petalomonas*, à flagel unique mais antérieur et à nourriture animale d'ailleurs, lorsque, comme on l'observe parfois, ceux-ci tentent de se dégager d'obstacles qu'ils rencontrent et s'orientent alors de telle façon que leur flagel soit dirigé en arrière, comme c'est le cas normal chez *Clautriavia*. Mais cette ressemblance est évidemment toute fortuite.

5. *Petalomonas mira* AWER.

L'éminent protistologue russe, Prof. AWERINTZEW, a décrit en 1901 un curieux *Petalomonas*, qu'il a appelé *P. mira*, caractérisé surtout par le fait que la face dorsale présente trois fortes carènes longitudinales. La description de cette espèce a paru dans le Ber. Biolog. Süßwasserstation Naturf. Ges. St Petersburg., Bd. I, p. 224, pl. I, fig. 16 (1901), ainsi que dans les Protok. S. Petersb. Obsch., XXX, p. 249 (1902).

Cette description étant peu accessible, je crois bon de la reproduire ici, traduite du russe :

„La face inférieure ou ventrale, presque toujours tournée vers le substrat, représente une surface légèrement concave dans l'axe longitudinal et se prolonge en avant en un court rostre, arrondi, légèrement courbé à droite, à la partie inférieure duquel se trouve une petite échancrure; près de celle-ci s'insère le flagel, à une légère distance du bord antérieur de l'organisme. La face ventrale est la plus large au milieu de sa longueur; en arrière elle se continue en deux saillies, sortes de „cornes“, séparées par une échancrure arrondie assez profonde. En dessus, sur la face dorsale, et partant du rostre il y a trois „carènes“ à peu près parallèles à l'axe longitudinal du corps, à crête amincie et allant en s'élevant de l'extrémité antérieure à l'extrémité postérieure. L'une d'elle occupe la ligne médiane; elle est légèrement courbée dans la partie antérieure et se prolonge en arrière un peu au delà du bord concave

indiqué plus haut, constituant ainsi une troisième saillie, dorsale. Les deux autres carènes sont latérales par rapport à la première; elles se trouvent à peu près à égale distance de celle-ci et du bord externe et n'atteignent pas l'échancrure postérieure. Je n'ai pu observer le noyau ni les vacuoles pulsatiles. Près du bord extérieur de l'organisme se trouvent, disposés en ligne, des grains de nature



Fig. 8a.



Fig. 8b.

Petalomonas mira. — Réd. $\frac{1}{4}$.

non déterminée (paramylon?). Le corps renferme des résidus alimentaires et des gouttelettes graisseuses. La progression est fort lente, par reptation sur le substrat. Longueur de l'organisme, environ 0,026—0,03 mm; largeur, 0,018 mm (flagel un peu plus long que le corps).⁴

J'ai eu la chance de retrouver, à Coxyde également, dans la même mare qui m'a donné le *Mastigamaba pilosa* et d'autres formes intéressantes, ce joli *Petalomonas*, et j'en profite pour compléter la

description d'AWERINTZEW et pour donner quelques détails nouveaux sur cette espèce peu commune. Tous les exemplaires que j'ai observés étaient dépourvus de „rostre“ antérieur, leur structure était également autre que ne le décrit AWERINTZEW en ce qui concerne les carènes; ils ne me paraissent toutefois pas représenter une espèce distincte et je les considère comme une simple variété que j'appellerai *P. mira* var. *aberrans*.

L'organisme est d'assez grande taille et sa structure „élégante“ lui fait bien mériter le nom de *mira* que lui a imposé mon collègue russe! Il est de teinte pâle et son plasma renferme des granulations brillantes plus ou moins abondantes. La forme générale du corps est elliptique, l'extrémité antérieure non prolongée en un bec courbé en dehors, l'extrémité postérieure acuminée d'ordinaire.

Je n'ai pas vu d'exemplaires correspondant exactement à la description d'AWERINTZEW ni à sa figure, d'après lesquelles le corps se prolongerait en arrière en deux saillies marginales et sa face dorsale présenterait trois carènes dont les deux latérales s'arrêteraient un peu avant l'apex. Chez tous mes spécimens, les carènes s'étendaient toutes trois aussi loin en arrière et de même naissaient au même niveau en avant. La fig. 8b représente l'organisme tel qu'il se présentait d'habitude: On voit que les carènes se continuent en arrière jusqu'à l'extrémité même du corps, les bords libres se continuant ici en somme comme deux carènes également, carènes marginales. Les carènes ont un trajet soit rectiligne soit un peu sinué ou en forme de **S** fortement étiré. Elles sont, en coupe, triangulaires, plus ou moins amincies au sommet mais d'ordinaire à tranche pas très fine, elles vont en s'élevant peu-à-peu à partir de l'avant jusque vers la moitié puis diminuent graduellement de hauteur pour se terminer à l'apex postérieur. — D'habitude l'épaisseur du *Petalomonas* n'est guère supérieure à la moitié de sa hauteur.

La figure 8a représente l'organisme sous un autre aspect, fort différent du précédent à première vue: sous cette forme il semblait se mouvoir plus rapidement. Dans ce cas nous voyons que le *Petalomonas* s'est en quelque sorte ramassé sur lui-même, le diamètre ventral a diminué, les bords se sont rabattus davantage vers le bas, formant plus nettement carènes, et les trois carènes dorsales sont nettement courbées en **S** allongé Et de plus, fait intéressant, nous voyons ici chacune des carènes, et chaque bord également, se continuer en arrière en un prolongement, ou saillie, acuminé fort net, chacun bien distinct de ses voisins: l'organisme se termine ainsi par cinq prolongements distincts. Nous avons là,

en somme, l'exagération de ce que nous représente le dessin de l'auteur russe, où les deux bords se continuent déjà en arrière et où la carène médiane fait un peu saillie.

An premier abord il paraîtrait que cette deuxième forme est totalement distincte de la première. Mais un examen attentif d'individus appartenant à ce premier type mène bientôt à la conclusion que la forme à cinq prolongements terminaux séparés n'est qu'une transformation temporaire de celle qui est régulièrement acuminée en arrière. En effet il arrive parfois que l'on constate chez celle-ci que l'apex postérieur n'est pas simple comme il le paraissait, mais simplement constitué par le rapprochement des saillies que l'on trouve séparées chez la forme décrite en deuxième lieu. Ainsi l'on observe des exemplaires chez lesquels les extrémités des cinq saillies sont bien nettes, d'autres où la carène médiane par exemple est séparée à son extrémité des autres carènes et se prolonge librement, et il arrive même que si l'on étudie un même individu à différents moments il se présente soit sous l'une des formes indiquées soit sous l'autre. Je n'ai pu déterminer avec quelque certitude le motif amenant l'organisme à prendre l'une ou l'autre forme, mais peut-être s'agit-il simplement d'une question de locomotion.

Le flagel est un peu moins long que le corps ou tout au plus aussi long que lui (AWERINTZEW le dit de longueur légèrement supérieure à celle du corps mais le figure notablement plus long); il est plus mobile à l'extrémité distale; il est inséré dans une faible dépression antérieure du corps, et naît près de l'extrémité antérieure.

Le système vacuolaire, composé d'une vacuole principale et d'une vacuole pulsatile annexe, est d'ordinaire peu visible par suite de la structure même de l'organisme; mais avec quelque attention on arrive néanmoins à la distinguer. — Dans le corps même j'ai en outre parfois rencontré quelques vacuoles non pulsatiles.

Le noyau est situé vers le milieu du corps, du côté droit de l'organisme; il est grand, de forme elliptique-ovalaire, et renferme une grosse masse chromatique de même forme que lui.

Je n'ai pu étudier la division ni la nutrition de ce beau *Petalomonas*. Et je n'ai pas observé le long du bord externe la série de granulations qu'indique AWERINTZEW pour ses spécimens.

6. *Errera mirabilis* n. gen. n. sp.

Dans un échantillon d'eau recueilli le 28 mars 1905 dans l'un des marais de Genck, dans la Campine limbourgeoise belge, j'ai



Fig. 9. *Errera mirabilis*.



Fig. 10.



Fig. 11. *Errera mirabilis*.

rencontré un Flagellate extraordinaire que je n'ai trouvé mentionné nulle part et que je crois pouvoir décrire ici bien que je n'ai pu l'étudier de façon aussi détaillée que je l'eus désiré.

J'ai appelé *Errera* cet organisme intéressant en souvenir de mon ancien maître, le regretté LEO ERRERA, fondateur de l'Institut Botanique de Bruxelles, enlevé prématurément, il y a peu de mois, à ses travaux et à la Science.

Comme le montrent les figures 9 et 10 ci-contre, la forme de l'organisme est assez curieuse, bien différente de celle que présentent d'habitude les Flagellates. Je ne puis mieux la comparer qu'à celle de deux chapeaux d'Agaricacées réunis par une base commune représentant, si l'on veut, les parties supérieures des deux pieds accolées par la tranche basale; les deux chapeaux sont déprimés en dessus.

La figure 11 montre l'*Errera* en coupe optique longitudinale, ce qui permet de mieux saisir sa structure bizarre.

La partie médiane est plus étroite en son milieu, mais en avant et en arrière elle va en s'élargissant, et aux deux extrémités de ce

„pied“ commun se trouvent les deux „chapeaux“, dont la concavité est tournée vers le pied.

Si nous examinons la face antérieure du chapeau antérieur, celle qui porte le flagel, nous voyons qu'elle est en forme de coupe, se déprimant en une sorte d'entonnoir large et pas très profond, graduellement rétréci; au fond de cet entonnoir s'insère le flagel. En dehors il se continue insensiblement avec le reste du chapeau, sans crête ni séparation aucune.

Les bords du chapeau antérieur sont épais, nettement rabattus vers le bas ordinairement, constituant ainsi autour de l'insertion du pied une sorte de gonttière, comme le représente la figure 11, coupe imaginaire de l'organisme. Le contour marginal du chapeau n'est pas régulièrement arrondi, comme l'est la coupe transversale médiane de l'organisme: ce contour est sinué, ainsi que le montrent la figure 10, représentant l'*Errera* vu de face, de même que la figure 9 où il est vu de côté; il n'y a d'ailleurs pas de régularité non plus dans les sinuosités marginales, et tantôt l'on n'observe que de légères ondulations, tantôt au contraire le bord est assez profondément découpé.

Le chapeau postérieur est assez semblable au chapeau antérieur. Il forme également gonttière autour de la base, et de même la face postérieure (c'est-à-dire celle qui est libre) est déprimée: mais ici la dépression n'est pas en forme d'entonnoir, étant moins profonde et arrondie. Les sinuosités marginales sont d'habitude plus accentuées que celles que présente le bord du chapeau antérieur; sur l'organisme vu de profil on voit souvent que le sommet du chapeau postérieur offre des dépressions répondant à des sillons longitudinaux qui naissent dans la concavité et s'étendant vers le bord marginal, les parties surélevées qui séparent les sillons correspondant aux lobes marginaux.

Parfois, c'est à peine s'il y a un rebord, soit à l'avant soit à l'arrière, et j'ai même observé un individu chez lequel la partie postérieure n'était nullement rebordée, tout en étant profondément lobée sur tout son contour.

L'organisme est très légèrement grisâtre, de teinte mate, pâle. A la surface il n'y a pas différenciation en une membrane tranchée. Le plasma renferme des granulations peu nombreuses, assez petites. Le flagel, qui, nous l'avons vu, s'insère au fond de l'entonnoir antérieur, est bien net, assez fort, et mesure de deux à trois fois environ la longueur du corps; à sa base il s'épaissit un peu.

La forme de l'*Errera* est assez constante. Il mesure de 20 à

25 μ de long (les figures ci-jointes n'ont pas été faites à la chambre claire). — Je n'ai pu étudier ni le noyau ni la vacuole pulsatile malheureusement.

L'organisme nage assez rapidement, en donnant des coups de flagel assez espacés entre eux; il avance en tournant sur l'axe longitudinal de gauche à droite, et en même temps on observe un mouvement de balancement sur l'axe transversal, de telle sorte qu'on aperçoit tour-à-tour de profil la face antérieure et la face postérieure.

Les spécimens que j'ai rencontrés étaient en très petit nombre et je n'ai pu observer l'espèce qu'une seule fois . . . je n'ai donc pu l'étudier de façon détaillée, mais il est hors de doute qu'il ne s'agisse d'un type absolument nouveau de Flagellates! Sa position systématique ne peut encore être déterminée avec certitude, le système vacolaire notamment étant encore inconnu. Mais je suis fort enclin à croire que *Errera* doit être classé parmi les *Protomastigenae*.

NB. — Les figures 1 à 8 (inclus) accompagnant cette notice ont toutes été dessinées à la chambre claire d'ABBE, objectif apochromatique à immersion homogène 2.0 de ZEISS, oculaire compensateur 12. Sous chacune d'elles est indiquée la réduction employée pour la reproduction.

Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

Nochmals über *Stentor coeruleus*.

Von

Dr. Eugen Neresheimer (München).

Da eine von mir in diesem Archiv veröffentlichte Arbeit ¹⁾ gleichfalls in diesem Archiv ²⁾ kürzlich scharf angegriffen und in fast allen ihren morphologischen Ergebnissen als falsch hingestellt wurde, sehe ich mich leider gezwungen, an dieser Stelle mich zu der Sache kurz zu äußern, und das Bild, das die Leser der letztgenannten Arbeit sich von meinen Fähigkeiten machen müssen, etwas zu retouchieren.

Um was es sich handelt, ist in den beiden Arbeiten nachzulesen. Zuzugeben ist von vornherein, daß die von mir angegebenen Konservierungsmethoden für sich allein nicht geeignet erscheinen, einwandfreie Resultate zu erzielen, und daß ich es versäumt habe, genügend die eigentlich selbstverständliche Tatsache hervorzuheben, daß ich auch andere bewährte Methoden zur Kontrolle herangezogen habe. Was hiermit nachgeholt sei. Desgleichen scheine ich nicht genügend betont zu haben, daß es auch mir möglich ist und war, am kontrahierten *Stentor* die Myophane schon an ihrem Kontraktionszustande zu erkennen. Aber man hätte dies vielleicht doch aus dem Satze (S. 310) herauslesen können: „Während nämlich bei diesen (den kontrahierten *Stentoren*) die Muskelfibrillen, ihrer Funktion gemäß, sich verkürzt und, besonders im aboralen Körperdrittel, oft fast bis

¹⁾ E. NERESHEIMER: Über die Höhe histologischer Differenzierung bei heterotrichen Ciliaten. Bd. 2 Heft 2 1903.

²⁾ O. SCHRÖDER: Beiträge zur Kenntnis von *Stentor coeruleus* EHRLG. und *St. roosei* EHRLG. Bd. 8 Heft 1 1906.

auf das Dreifache verdickt zeigen, bleiben die Neurophane ersichtlich stets gleich lang und gleich dick, im kontrahierten Tiere liegen sie schlaff und etwas geschlängelt über den Myonemen in den Zwischenstreifen.“

Ich müßte also wohl zur Abwechslung einmal hier die Zwischenstreifen für Neurophane genommen haben. Nur fürchte ich, die Zwischenstreifen schlängeln sich beim kontrahierten Tier nicht.

Ferner gab ich an und illustrierte durch meine — zugegeben, nicht sehr schönen! — Figuren, daß die Zwischenstreifen bei meinen Stentoren ungefärbt geblieben seien. Wenn meine Neurophane Myoneme, meine Myoneme aber Zwischenstreifen sind, oder umgekehrt, was sind dann die ungefärbten Streifen, in die sie beide eingelagert sind? Liegen zwischen Rippen- und Zwischenstreifen noch weitere Streifen?

Es bleibt nur übrig, daß meine Angaben im Text auch nicht wahrheitsgetreu sind, wie dies so freundlich von meinen Fig. 7 u. 8 angenommen wird. Meine Figuren sind allerdings insofern schematisiert, als ich Überflüssiges und nicht zur Sache Gehöriges nicht mit gezeichnet habe, wie z. B. die Pigmentkörner, deren Fehlen so große Verwunderung erregt.

Daß die von mir angewandte Färbungsmethode nach MALLORY in ihren Resultaten launisch und wechselnd ist, weiß jeder, der sie einmal versucht hat. Wie viele Präparate mir mißlangen und keine Neurophane zeigten, weiß ich nicht mehr; aber es war sicher die Mehrzahl. Immerhin besitze ich noch heute einige, die deutlich das zeigen, was ich s. Z. beschrieben habe.

München, Januar 1907.

*Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

Zur Statik und Entwicklung des Coelographidenskelettes.

Achte Mitteilung über die Radiolarien der „Valdivia“-Ausbeute.

Von

Valentin Häcker

Technische Hochschule, Stuttgart.

(Hierzu 20 Textfiguren.)

Die Coelographiden stellen wohl, neben den Planktonetten, die am höchsten entwickelten Radiolarien dar und mit Recht hat A. LANG in seinem Lehrbuch eine dieser Formen (*Coelospathis ancorata*) einer eingehenden Schilderung gewürdigt, um an ihr zu zeigen, wie weit im Körper eines Einzelligen die Komplikation und Spezialisierung der Formverhältnisse gehen kann. Nun wird aber der Leser beim Studium sowohl des „Challenger“-Reports, als auch des LANG'schen Lehrbuchs unmittelbar den Eindruck gewinnen, daß zwar in rein morphologischer Richtung unsere Kenntnis dieser wunderbaren Organismen eine sehr erschöpfende ist, daß aber in physiologischer Hinsicht, insbesondere was die biologische Bedeutung der speziell für die Coelographiden charakteristischen Strukturen anbelangt, sich auf Schritt und Tritt unbeantwortete Fragen erheben. In der Tat bin ich denn auch bei der Bearbeitung der Coelographiden der „Valdivia“-Ausbeute zu meiner Freude gewahr geworden, wie sich gleich beim Betreten des Gebietes nach allen Seiten hin eine freie Bahn eröffnete und welche Fälle von anziehenden Problemen gerade diese Gruppe der Tripyleen darbietet.

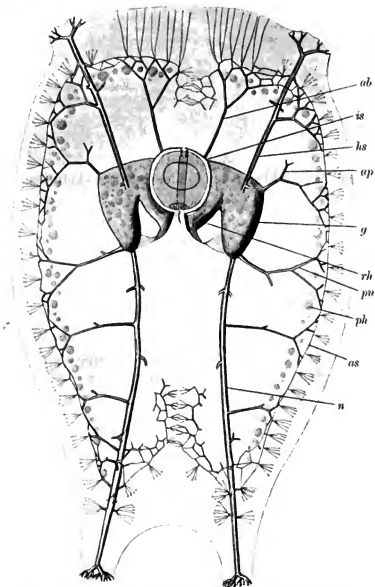


Fig. 1. *Coelographis antarctica* n. sp. Ansicht vom Schaleuspalt aus.
 ab Aboraldendrit. is innere Schale. hs Hauptseitengriffel. ap Apikaldendrit.
 g Galea. rh Rhinocaula. pn Postnasaldendrit. ph Phäodellen.
 as Äußere Gitterschale. n Nasalgriffel.

Es seien znnächst an der Hand einer neuen Form, *Coelographis antarctica*, die wichtigsten Strnkturen nochmals vorgeführt (Fig. 1). Die Zentralkapsel ist unmittelbar eingeschlossen von der inneren Schale (*is*). Diese besteht aus zwei dünnwandigen, von Poren durchbrochenen, hemisphärischen Schalenklappen, welche am aboralen (der Astropyle gegenüberliegenden) Rande eine Zähnelung, ähnlich derjenigen der Conchariden besitzen.¹⁾ Jede Halbschale trägt einen hohlen, ambosförmig nach der Oralseite verlängerten, als Helm oder Galea bezeichneten Ansatz (*g*), dessen Basis in eine, zum oralen Schalenrand hinziehende Röhre, das Nasenrohr oder die Rhinocanna (*rh*), ausgezogen ist. Die Öffnung der letzteren besitzt einen aufgekrempten Rand, welcher mit der oralen oder Stirnfläche der Galea durch eine dünne Kieselbrücke, das Frenulum, verbunden ist.

Die äußere Gitterschale (*as*) ist ebenfalls zweiklappig. Da jede der beiden äußeren Schalenhälften im ganzen die Gestalt eines flachen (kiellosen) Bootes mit zugeschärftem Bug und abgestutztem Heck besitzt, so hat die äußere Gitterschale und damit auch das ganze Tier die Form einer Pyramide mit rechteckiger Grundfläche und demgemäß mit einer senkrechten, ungleichpoligen Hauptachse und zwei horizontalen, gleichpoligen, untereinander aber ungleichen Kreuzachsen. An der Hauptachse kann man einen durch die Lage der Astropyle bestimmten, oralen (nach HÄCKEL oberen, nach meiner Auffassung unteren)²⁾ und einen aboralen Pol unterscheiden, die beiden Symmetrieebenen der Pyramide mögen als Spaltebene und Apikalebene bezeichnet werden. Erstere (die Frontalebene HÄCKEL's) stellt die Trennungsebene der beiden Schalenhälften dar, die Apikalebene (Sagittalebene HÄCKEL's, in Fig. 1 die Zeichnungsebene) schneidet die Apices der Galeae und bildet also die gemeinschaftliche Medianebene der beiden Galeae und Rhinocannae. Außer der Hauptachse und den genannten Ebenen

¹⁾ HÄCKEL bildet (Report, tab. 127, fig. 8) eine Schalenklappe von *Coeloplegma murrayanum* ab, deren Seitenränder gleichmäßig mit Zähnen besetzt erscheinen. Ich habe die Zähne bei allen Formen, einschließlich einiger Exemplare von *Coeloplegma murrayanum*, stets nur am aboralen Rande der Schalenklappen angetroffen.

²⁾ Für zahlreiche Tripyleen, insbesondere für diejenigen, bei welchen die Zentralkapsel in unzweideutiger Weise einen Schwebeapparat darstellt (*Planktonetta*, *Nationaletta*, *Atlanticella*), läßt es sich wahrscheinlich machen, daß die Zentralkapsel oberhalb des Phäodinus gelegen und demnach die in das Phäodinum gestaute Astropyle nach abwärts gerichtet ist. Auch bei den Coelographiden scheint mir das allgemeine statische Empfinden auf eine entsprechende Orientierung hinzuweisen.

hat die die Apices der Galeae verbindende Apikalachse (Sagittalachse HÄCKEL's) eine für die Orientierung der Skeletteile wichtige Bedeutung.

Die innere und äußere Gitterschale sind miteinander verbunden durch die radialen Skelettelemente, welche ausschließlich in Form verästelter Kieselröhren auftreten. Es sind zweierlei Gebilde zu unterscheiden: 1. dichotomisch verzweigte Röhren oder, wie ich sie nennen möchte, Dendriten, welche mit ihren Endverzweigungen nur bis an die äußere Gitterschale herantreten, und 2. Griffelröhren, welche mehr oder weniger über die äußere Gitterschale hinaus verlängert und innerhalb der letzteren mit dendritischen Innenästen, außerhalb mit freien, ankertragenden Seitenbäumchen und mit einer aus einem Kranz fingerförmiger Endsprossen bestehenden Terminalkrone versehen sind (vgl. Fig. 1, *n*). Speziell bei *Coelographis* sind in jeder Hälfte des Tieres sechs Radialröhren vorhanden. Von diesen sind die vier unpaaren in der Apikalebene gelegen, nämlich erstens ein stark entwickelter, oralwärts gerichteter Nasalgriffel (*n*), dicht dahinter ein kurzer Postnasaldendrit (*pn*), ferner an der Grenze zwischen der Apikal- und Aboralfläche der Galea ein Apikal- (*ap*) und schließlich auf der Schalenklappe selbst, zwischen Galea und bezahntem Aboralrand, ein Aboraldendrit (*ab*). Außerdem gehen von den Seitenflächen der Galea die schräg aboralwärts gerichteten Hauptseitengriffel (die Tergalröhren HÄCKEL's) *ab* (*hs*).

Bezüglich des Weichkörpers ist zu erwähnen, daß nach den Mitteilungen BÜTSCHLI's über die Gattung *Coelothamnus* und nach zahlreichen mir vorliegenden Präparaten, das ganze Skelett, einschließlich der Terminalkronen und der Seitenbäumchen der Griffel, von der Gallerte, beziehungsweise von einer dieselbe einhüllenden extrakalymmalen Sarkodehaut eingeschlossen ist. Die Terminalbildungen erscheinen also auch bei dieser Triplyleengruppe in funktioneller Hinsicht als Träger des Oberflächenhäutchens und damit in erster Linie als äußere Druckfänger und ebenso sind die Ankerfädchen nicht als Fangapparate, sondern als Stützelemente zu betrachten. Hinsichtlich der Phäodellen (*ph*) sei hier nur erwähnt, daß dieselben bei *Coelographis* und verwandten Formen in der Regel auf den Innenraum der Galeae und auf die Oberflächenschicht des Weichkörpers konzentriert sind. Seltener finden sich Anhäufungen von Phäodellen in der Astropylengegend vor.

Soviel über den Bau und die Funktion der einzelnen Strukturen speziell von *Coelographis antarctica*. Einen tieferen Einblick in die Bedeutung der komplizierten Formverhältnisse, insbesondere der

Galea und Rhinocanna, erhält man, wenn man zum Vergleich weniger spezialisierte Typen, insbesondere die von HÄCKEL als eine eigene Familie behandelten Coelodendriden heranzieht.

Die einfachsten Verhältnisse finden sich bei den kleineren, sphärisch gestalteten, vorzugsweise in den Oberflächenschichten vorkommenden *Coelodendrum*-Arten (*C. ramosissimum*, *spinosissimum*, *furcatissimum*). Speziell bei *C. ramosissimum* (Fig. 2) bildet die Galea einen schmalen, quer zur Hauptachse gelegenen Wulst oder Bügel, welcher in der Mitte am höchsten ist und eine steilere Oral- und eine flachere Aboralfläche besitzt. An der Basis der Aboralfläche des Bügels fand ich fast stets eine Reihe kleiner, dicht über der

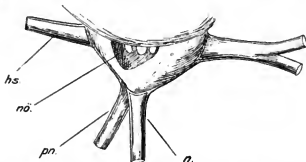


Fig. 2. Galea von *Coelodendrum ramosissimum*. Durch die weite, an der Oralfläche der Galea gelegene Nasenöffnung hindurch sieht man die kleinen, arkadenähnlichen Poren an der Basis der Aboralfläche.

n Nasaldendrit. *pn* Postnasaldendrit. *hs* Hauptseitendendrit. *nö* Nasenöffnung.

Schalenklappe gelegener Fensteröffnungen, welche durch schmale Pfeiler voneinander getrennt sind und so ein Arkaden-ähnliches Ansehen gewähren. Bei sehr kleinen Exemplaren waren zuweilen auch an der Basis der Oralfläche unregelmäßige Fensteröffnungen zu sehen, in ähnlicher Weise, wie dies schon R. HERTWIG für diese Art abgebildet hat (1879, tab. 10, fig. 12 a), bei den meisten, namentlich aber bei allen größeren Exemplaren fand ich dagegen an der Basis der Oralfläche eine einzige große und weite Torbildung, welche als Nasenöffnung bezeichnet werden mag (*nö*).

Über die Bedeutung der Galea kann bei diesen sphärischen Formen kein Zweifel bestehen. Sie tritt uns hier offenbar als ein Postament für die vier noch annähernd gleich stark entwickelten und im allgemeinen paarweise in zwei aufeinander senkrechten Ebenen angeordneten Dendriten (Nasal-, Postnasal-, zwei Hauptseitendendriten) entgegen. Es läßt sich auch ohne weiteres erkennen, daß

der Bau der Galea selbst und die Anordnung der radialen Skelettelemente eine solche ist, daß sämtliche von letzteren auf die Schalenklappe ausgeübten Druckwirkungen, mit Ausnahme der in die Apikalachse fallenden, sich gegenseitig anheben. Die Druckverteilung ist also eine derartige, daß bei einer wechselnden Vergrößerung und Verkleinerung des Centralkapselvolumens, wie sie nach den Ergebnissen bei anderen Formen auch für die *Coelodendriden*, speziell bei der vertikalen Wanderung, angenommen werden muß, das Auseinanderweichen und Zusammentreten der inneren Schalenklappen stets in der Richtung der Apikalachse vor sich geht.

Bei der Weiterentwicklung des einfachen wulst- oder bügel-förmigen Galeatypus, wie er sich bei den kleineren sphärischen *Coelodendrum*-Arten findet, haben nun offenbar zwei Faktoren die Hauptrolle gespielt, nämlich 1. die Gestaltveränderungen des Gesamtkörpers und 2. die Übernahme einer Nebenfunktion ernährungsphysiologischer Art durch die Galea.

Wie bei den meisten anderen Tripyleengruppen sehen wir auch bei den *Coelodendriden* und *Coelographiden*, daß im Gegensatz zu den kleineren, meist sphärisch gestalteten Oberflächenbewohnern die in größeren Tiefen vorkommenden Formen zugleich mit der Zunahme des Volumens verschiedenartige Abweichungen von der Kugelgestalt erfahren. Insbesondere findet sich, offenbar im Interesse eines erhöhten Steig- und Sinkvermögens, bei zahlreichen Formen eine mehr oder weniger seitlich abgeplattete Gestalt, so besitzen z. B. *Coelodendrum flabellatum* (Fig. 3) und *Coelodiceras spinosum* (Fig. 4) einen beil- oder schmetterlingsförmigen Weichkörperumriß, bei *Coelographis* und einigen nächstverwandten Gattungen herrscht, wie wir sahen, die Gestalt einer seitlich zusammengedrückten Pyramide vor usw.

Diese Veränderungen in der Gestalt des Gesamtkörpers sind nun ihrerseits bedingt durch eine ungleich starke Ausbildung einzelner radiärer Skelettelemente. So kommt der schmetterlingsförmige Umriß des Weichkörpers von *Coelodendrum flabellatum* mit seinen flügelartigen Anhängen dadurch zustande, daß der Stamm des Postnasaldendriten außerordentlich verlängert ist und seine zunächst dichotomische Verzweigung erst nahe der Peripherie ihren Anfang nimmt (Fig. 3). Ähnliche Verhältnisse liegen bei der Gattung *Coelodiceras* vor, bei welcher die Verlängerung des Nasalstachels bereits mit einem Übergang zum Griffeltypus verbunden ist (Fig. 4), und am weitesten ist die Umgestaltung des Weichkörpers auf Grund einseitiger Entwicklung einzelner Radialelemente bei der Unterfamilie der *Coeloplegminen* gediehen, innerhalb welcher, je nach der Zahl der griffelartig differen-

zierten Skelettelemente, alle Übergänge von der Pyramidenform zur Sternform angetroffen werden.

Mit der einseitigen Entwicklung einzelner Radialröhren hängt nun weiterhin die Umgestaltung der Galea zusammen. In zahlreichen anderen Tripyleengruppen sind die Radialstacheln nicht direkt der Gitterschale eingepflanzt, vielmehr erheben sie sich entweder auf zeltförmigen Schalenaufsätzen oder auf kegelförmigen, meist von

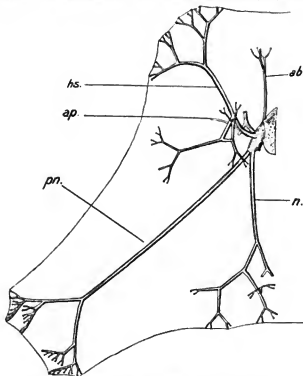


Fig. 3. *Coelolendrum flabellatum*. Halbes Skelett.

n, *pn*, *hs*, *ap*, *ab* Nasal-, Postnasal-, Hauptseiten-, Apikal- und Aboraldendrit.

fensterartigen Poren durchbrochenen Ausstülpungen der Schalenwandung. Die Bedeutung aller dieser Bildungen, für welche einerseits die Sagosphäriden, andererseits die Castanelliden, Circoporiden und Tuscaroriden zahlreiche Beispiele liefern, liegt offenbar darin, daß ein von den Terminalbildungen des Radialstachels aufgenommener und durch seinen Schaft weitergeleiteter Druck oder Stoß durch die Basalzelte und Basalkegel möglichst gleichmäßig nach allen Seiten

auf die Gitterschale verteilt wird. Ganz das nämliche findet sich aber bei den Coelodendriden und Coelographiden. Es zeigt sich, daß immer diejenigen Teile der Galea, welchen die am stärksten entwickelten Radialelemente aufsitzen, eine meist kegelförmige Erweiterung aufweisen, so daß die Gestalt der Galea durch die Zahl und das gegenseitige Größenverhältnis der besonders differenzierten Radialstacheln bestimmt wird. Bei *Coelodendrum flabellatum* z. B. (Fig. 3), bei welchem speziell der Postnasaldendrit eine bedeutende

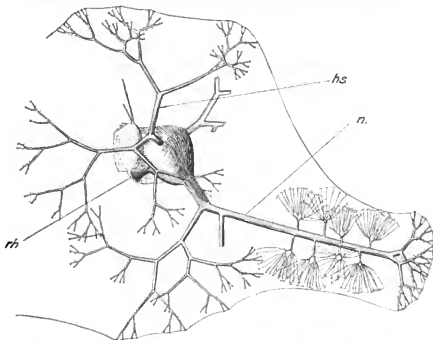


Fig. 4. *Coelodiceras spinosum* n. gen. n. sp. Die Galea im Verhältnis zur inneren Schalenklappe mächtig entwickelt.

n Nasalgriffel. hs Hauptseitendendrit. rh Rhinocanna.

Verlängerung aufweist, ist die Galea nach der Oralseite schuppenförmig ausgezogen; bei *Coelothyrsus* (Fig. 5 u. 6) ist entsprechend der starken Entwicklung der paarigen Hauptseitengriffel der orale Teil der Galea ambosförmig vorgezogen und in der Mittellinie vielfach eingekerbt (Fig. 6), so daß jeder der Griffel auf einer besonderen Vorwölbung aufsitzt; bei *Coelodrymus lanceolatus* (Fig. 7) finden wir die Galea ungefähr in gleichem Maße nach der Basis der Nasal- und

der Hauptseitendendriten ausgezogen, während *Coelechinus* (Fig. 8) insofern ein interessantes Gegenstück hierzu bildet, als, entsprechend

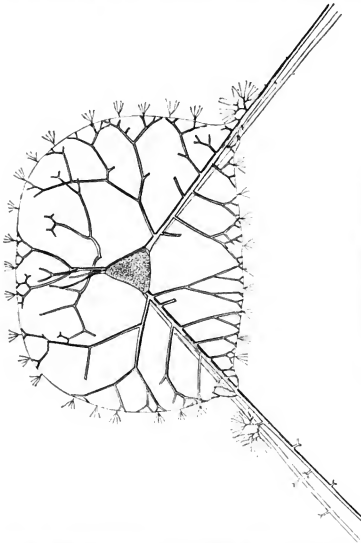


Fig. 5. *Coelothyrus cypripedium* n. gen. n. sp.

der gleichmäßigen Entwicklung der Hauptseiten- und des Aboral-
dendriten die Galea eine breit abgestutzte, ambosartig vorge-

zogene Stirnkante und eine kegelförmig von der Schalenklappe abgehobene und durch einen oder mehrere besondere Pfeiler gestützte Aboralecke besitzt. Bei den Coeloplegminen (Fig. 1 u. 9) schließlich macht sich die ungleiche Entwicklung der einzelnen Radialelemente in ganz besonders charakteristischer Weise geltend: der mächtig entwickelte Nasalgriffel (*n*), unterstützt durch den schwächeren Postnasaldendriten (*pn*), bewirkt eine sehr starke kegelförmige Verlängerung der Galea gegen die Oralseite, die weniger kräftig ausgebildeten Hauptseitendendriten (*hs*) sitzen ihrerseits etwas flacheren Erhebungen der Galea auf und selbst der schwache Aboraldendrit (*ab*) scheint

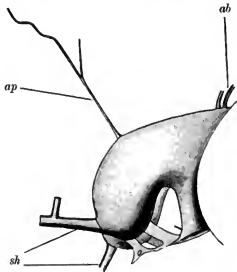


Fig. 6. Galea von *Coelothyris cypridium*.

nicht ohne Einfluß auf die Bildung der Galea zu sein, so daß dieselbe in Oberflächenansicht einen sehr charakteristischen, rautenartigen Umriß erhält. Besondere Verhältnisse liegen bei *Coelodiceras macropylum* (Fig. 10) vor, bei welchem die im Vergleich zur Schalenklappe ungeheure Entwicklung der ganzen Galea das kegelförmige Auswachsen einzelner Stachelbasen überflüssig zu machen scheint.

Neben der Veränderung der Gesamtgestalt und der sie bedingenden ungleichmäßigen Entwicklung der Radialstacheln spielt nun noch, wie bereits oben angedeutet wurde, ein anderer Faktor bei der Umbildung der Galea eine Rolle, nämlich die Übernahme einer ernährungsphysiologischen Aufgabe. Es möge zunächst der morpho-

logischen Umwandlung gedacht werden, welche die Öffnungen der Galea in den verschiedenen Reihen der Coelodendriden und Coelographiden erfahren haben. Es wurde bereits früher erwähnt, daß bei kleinen Exemplaren von *Coelodendrum ramosissimum* die Galea an der Basis ihrer Aboralfläche fast stets eine Reihe arkadenähnlich angeordneter Fensteröffnungen besitzt und daß bei größeren Exemplaren (Fig. 2) sich gewöhnlich an der oralen Böschung eine größere, meist halbmondförmige Nasenöffnung befindet. Auf ähnliche Verhältnisse, wie bei den größeren Exemplaren von *C. ramosissimum* stößt man auch bei den übrigen *Coelodendrum*-Arten, nur daß nicht selten (so bei *C. spinosissimum* und *furcatissimum*) der obere Rand der Nasenöffnung eine wulstartige Verdickung, die erste Andeutung der Rhinocanna, erhält (vgl. Fig. 3).

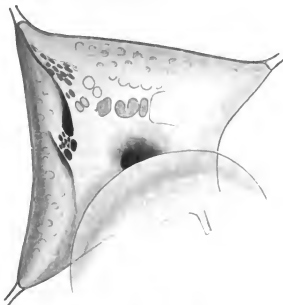


Fig. 7. Galea von *Coelodrymus lanceolatus* n. sp. von der Oralseite.

Bei einer ganzen Reihe von neuen Formen, die sich in der „Valdivia“-Ausbente vorfanden, ist ferner die Wandung der Galea in der oberen und seitlichen Peripherie der sehr weiten und hohen Nasenöffnung kreppenartig vorgezogen, so daß ein eigentlicher Torbogen entsteht. Dies ist der Fall bei *Coelodeca pumilio* n. sp. (Fig. 11), bei *Coelotetraceras xanthacanthum* n. gen. n. sp. (Fig. 12) und bei

Coelodicerus macropylum n. gen. n. sp. (Fig. 10). Speziell bei *Coelotetracerus* ziehen sich von dem wulstigen Rande der Nasenöffnung jederseits ein oder zwei dünne Spangen gegen die Basen der Hauptseitengriffel hin und stellen so die ersten Andeutungen von Frenulis

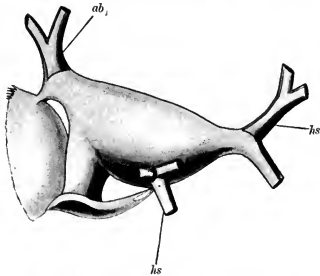


Fig. 8. Galea von *Coelechinus wapiticornis* n. gen. n. sp.

dar und etwas stärker finden wir diese Bildungen bei *Coelodicerus macropylum* entwickelt. Etwas abweichende Verhältnisse fand ich bei einer *Coelodrymus*-Art (Fig. 7), bei welcher die Oral- oder Stirnfläche der im ganzen pyramidenförmigen Galea größtenteils von einem dreieckigen, gefensterten Vorbau eingenommen wird, welcher der Rhinocanna anderer Formen entspricht und an seiner Basis die kraterförmige Nasenöffnung trägt.

Innerhalb der Gattungen *Coelodecas* und *Coelodicerus* sehen wir sodann die Umbildung des Torbogens zur rohrförmigen Rhinocanna fortschreiten, insbesondere ist bei *Coelodicerus spinosum* eine eigentliche, wenn auch nur kurze, schnauzenartige Rhinocanna ausgebildet (Fig. 4, *rh.*). Auch bei mehreren anderen Formen, z. B. bei *Coelanthemum auloceroide* n. gen. n. sp. (Fig. 13) ist an der noch sehr steilen Galea eine verhältnismäßig kurze und weite, schnauzenartige Rhinocanna angebracht. In dem Maße aber, als die orale Partie der Galea mehr und mehr ambosartig vorgezogen wird, verlängert sich auch die Rhinocanna zu einem bis an den oralen Rand der

Schalensklappe reichenden Rohr, dessen krempeartig aufgewulsteter Öffnungsrand durch die nunmehr breiter und fester werdenden Kieselrücken mit der Stirnfläche der Galea verbunden ist (Fig. 1).

In der Tat scheint ein engerer Zusammenhang zwischen der amhosartigen Vorwölbung der Galea und der Ausbildung der Rhinocanna zu hestehen. Denn einerseits wird offenbar durch die Vergrößerung der Nasenöffnung die Oral- oder Stirnfläche der Galea geschwächt, so daß eine kegelförmige Aushildung der Stachelhasen um so notwendiger erscheint, andererseits dienen umgekehrt der umgekrempte Rand der Nasenöffnung und die von ihm nach der Stirnfläche der Galea ziehenden Kieselrücken dazu, den vorgeschobenen Teil der Galea abzustützen und einen Teil des von den Griffeln aufgenommenen Druckes abzuleiten.

Nachdem wir die allmähliche Umwandlung der einfachen Nasenöffnung zur rohrförmigen Rhinocanna verfolgt haben, bleibt noch die Frage zur Beantwortung über, welche Bedeutung der Galeahöhlnng und Rhinocanna der Coelographiden zukommt?

Es ist hier in erster Linie auf die eigentümliche Verteilung der Phäodellen, d. h. der die Nahrungsteile einschließenden und verdauenden Sekretröpfen, im Weichkörper der Coelodendriden und Coelographiden hinzuweisen. In beiden Gruppen findet man, im Gegensatz zu den meisten übrigen Triplylen, eine außerordentlich wechselnde Anordnung der Phäodellen. So ist z. B. bei *Coelodendrum furcatissimum* bald die ganze Zentralkapsel von einer dichten Phäodiummasse umhüllt, bald sind die Phäodellen hauptsächlich in der Astropylengegend, bald fast ausschließlich in der äußersten Weichkörperschicht angeordnet. Eine bestimmte Regel war nicht zu ermitteln, insbesondere gahen die verhältnismäßig wenig zahlreichen Schließnetzfüge keinen Aufschluß darüber, ob vielleicht ein gewisser Zusammenhang zwischen der Tiefe des Vorkommens und der Verteilung des Phäodiums

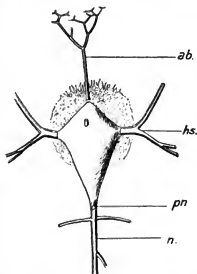


Fig. 9. Galea von *Coelographis antarctica* in Apikalan-sicht.

besteht. Im Gegensatz zu der Gattung *Coelodendrum* findet sich nun bei den Formen mit wohlausgebildeter Galea und Rhinocanna das Phäodium fast stets auf den Innenraum der Galea und auf die Oberflächenschicht des Weichkörpers (Fig. 1, *ph*) konzentriert, die Galea dient hier also offenbar als vorübergehendes Depot für die Phäodellen. Nun weist aber andererseits das Vorhandensein einer Rhinocanna, also einer Verbindungsröhre zwischen Astropylengegend und Galeahöhle darauf hin, daß es sich bei der Aufbewahrung der Phäodellen in der Galeahöhle nicht um ein mehr zufälliges, sondern um ein durchaus regelmäßiges Verhältnis handeln muß und daß also hier eine bestimmte, mit der Verdauung im Zusammenhang stehende Zirkulation vorliegt.

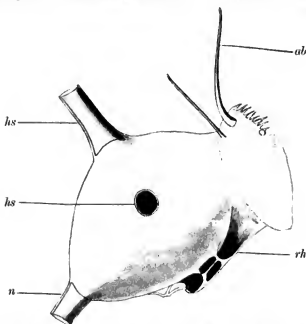


Fig. 10. Galea von *Coelodicerias macropylum* n. gen. n. sp. schräg von hinten.

Eine solche bestimmt geregelte Zirkulation läßt sich auch bei anderen Tripylen nachweisen. Ein besonders schönes Beispiel hierfür lieferte mir eine skelettlose, herzförmige, seitlich zusammengedrückte und mit zwei Centraalkapseln ausgestattete (dicystine) Form, von welcher zahlreiche Individuen in der südindischen Station 170 in einer Tiefe von 1700—1000 Metern gefischt wurden. Bei dieser

vorläufig als *Phaeocollla valdiviae* bezeichneten Form (Fig. 14), von welcher es ungewiß ist, ob sie nicht die nackte Jugendform einer dicystinen Aulacanthiden-Art darstellt, finden sich zwischen den beiden Centralkapseln vorzugsweise freie, d. h. noch nicht von den Sekretröpfchen eingeschlossene Nahrungskörper; am oralen Rande waren hauptsächlich kleinere dunkel tingierbare Sekretröpfchen mit eingeschlossenen Diatomeen und Nacktalgen (a), längs der seitlichen Ränder der Scheibe größere blassere Tropfen (b) und am aboralen Rande sehr große Gallertvakuolen (c) und „gefaltete Membranen“ (d),

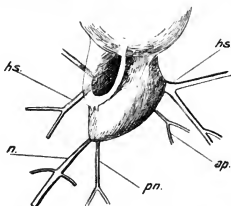


Fig. 11. Galea von *Coelodeca pumilio* n. sp. Schrägansicht.

d. h. durch Wirkung der Reagenzien deformierte Vakuolen, vorhanden. Hier ist mit Sicherheit zu erkennen, daß die aufgenommenen Nahrungsteile in den mittleren Partien des Weichkörpers von wahrscheinlich schleimartigen Sekretröpfchen umschlossen werden und daß die so gebildeten Phäodellen, während der Verdauung der Nahrung und unter gleichzeitiger Überführung des Sekretes aus einem tingierbaren, vielleicht mehr schleimigen in einen blassen, gallertigen Zustand,¹⁾ in einer Art von „Fontänenstrom“²⁾ nach den seitlichen und schließlich nach dem Hinterrande der Weichkörperscheibe befördert werden.

Unter Berücksichtigung dieser Verhältnisse gelangt man zu

¹⁾ In ähnlicher Weise kann z. B. in den Hautdrüsenzellen von Annelidenlarven die Umwandlung von Schleimtropfen in Gallertmassen stufenweise verfolgt werden.

²⁾ Ähnlich der bekannten Fontänenströmung mit rückläufigen Randströmen, wie sie bei verschiedenen Amöben beobachtet worden ist (RUBEN), nur daß bei *Phaeocollla* die Fontänenströmung nicht mit der Fortbewegung des ganzen Körpers verbunden ist.

folgenden Anschauungen bezüglich der Bedeutung von Galeahöhle und Rhinocanna.

Wie die Radialstacheln der Coelodendriden und Coelographiden selber, so ist auch die ihnen als Postament dienende Galea im Interesse der Material- und Gewichtsersparnis nicht als massiver,



Fig. 12.

Galea und ein Hauptseitendendrit von *Coelotetraceras xanthacanthum* n. gen. n. sp.

sondern als hohler, dünnwandiger Körper zur Ausbildung gelangt. Das nämliche Interesse der Material- und Gewichtsersparnis erfordert es aber, daß der von der Galea eingenommene, mit der weitergehenden Spezialisierung des Skelettes immer größer werdende Raum

nicht unausgenützt bleibt und so wird mehr und mehr, unter Ausbildung einer einzigen großen Nasenöffnung an Stelle der zahlreichen unregelmäßigen Fensterporen dieser Raum den Phäodellen zugänglich gemacht. Die damit verbundene Schwächung der oralen Galeawandung wird nun kompensiert, zum Teil, wie wir gesehen haben, durch kegelförmiges Vorwachsen der Stachelbasen, zum Teil aber durch Ansbildung eines wulst- oder krepfenartigen Torbogens.

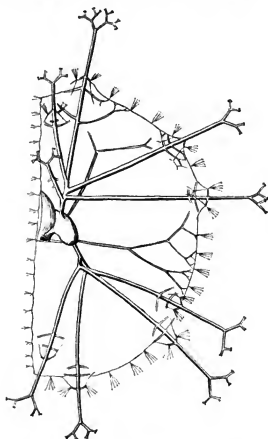


Fig. 13. *Coelanthemum auloceroide* n. gen. n. sp.

Mehr und mehr wird dann, ähnlich wie dies bei *Phaeocolla* der Fall ist, der Säftestrom in bestimmte Bahnen geleitet: die zunächst nur als Postament dienende Galea erhält neben ihrer ursprünglichen Be-

deutung diejenige einer Verdauungshöhle und, um die Zuleitung des Säftestroms auf direktem Wege und in bestimmtergerichteter Weise zu regulieren, wird sie durch die stärker auswachsende Rhinocanna

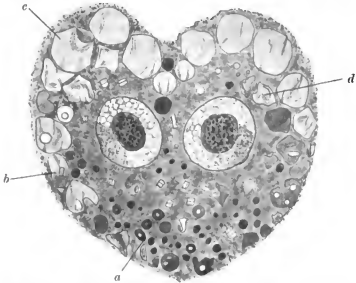


Fig. 14. *Phacocolla valdiviae* n. sp. Durch die Buchstaben a—d sind die successiven Umwandlungsstufen der Phäodellen bezeichnet.

direkt mit der Astropylengegend, d. h. mit der Stelle, wo Nahrungspartikel und Kernsekrete zusammenstoßen, verbunden.

Fassen wir das Bisherige zusammen, so läßt sich sagen, daß die Bedeutung der Galea eine doppelte ist: sie dient als ein Postament für die Radialstacheln und gleichzeitig als ein vorübergehendes Depot für die Phäodellen und damit als eine Art Verdauungsraum. Ihre besondere Gestalt ist bedingt durch die ungleiche Entwicklung der einzelnen Radialelemente und also indirekt durch die Gestalt und die statischen Verhältnisse der ganzen Zelle.

Es wurde ferner im speziellen gezeigt, daß hinsichtlich der Ausbildung der Nasenöffnung alle Übergänge von einfachen fenster- und torbogenartigen Öffnungen zu ausgesprochenen Rhinocannen mit aufgekremptem Öffnungsrande und regelmäßig ausgebildeten Frenulis

bestehen. Dies führt uns zunächst zu einer kurzen systematischen Betrachtung. Nach HÄCKEL sollen sich die beiden Familien der Coelodendriden und Coelographiden dadurch unterscheiden, daß bei ersteren die Rhinocanna fehlt und die Radialstacheln niemals als Griffel ausgebildet sind. Nun wurde aber, wie gesagt, der Nachweis geführt, daß sich innerhalb der beiden Gruppen sämtliche Übergangsstufen zwischen einer einfachen Nasenöffnung und einer wohlansgebildeten Rhinocanna vorfinden und ferner ließ sich an der Hand einiger neuer, der „Valdivia“-Ausbeute entstammender Formen zeigen, daß Rhinocanna und Griffelröhren hinsichtlich ihres Ausbildungsgrades keineswegs in einem streng korrelativen Verhältnis zueinander stehen. Es sei nur an den antarktischen *Coelechinus scapiticornis* erinnert, welcher im Bau der als Dendriten ausgebildeten Radialstacheln im wesentlichen mit den sphärischen *Coelodendrum*-Arten übereinstimmt,¹⁾ während er hinsichtlich der Beschaffenheit der Galea mit einigen griffeltragenden Formen eine größere Übereinstimmung zeigt (Fig. 8). Ich halte es daher für angebracht, die Coelodendriden und Coelographiden in einer einzigen Familie (Coelodendridae) zu vereinigen und innerhalb derselben eine Anzahl von Unterfamilien zu unterscheiden, von welchen vier dem HÄCKELschen System entnommen sind.

Ebenso wie sich zwischen den beiden HÄCKEL'schen Familien im ganzen keine Trennung durchführen läßt, so zeigt sich auch, daß innerhalb der kleineren Abteilungen die einzelnen Formen fast durchweg gleitend ineinander übergehen, so daß eine scharfe Auseinanderhaltung der Arten und selbst der bisher als Gattungen bezeichneten Formengruppen vielfach unmöglich ist. Insbesondere läßt sich für jeden einzelnen Skeletteil, sei es in dieser, sei es in jener Unterfamilie, der Nachweis führen, daß eine ganz allmähliche Umbildung Platz gegriffen haben muß, und andererseits liegen in keinem Fall zuverlässige Stützen für die Auffassung vor, daß an irgend einer Stelle eine sprungweise Entwicklung, wenigstens im Sinne der DE VRIES'schen Mutationen, stattgefunden habe. So sei hinsichtlich der kontinuierlichen Entwicklung von Galea und Rhinocanna nochmals auf die Gattungen *Coelodendrum* und *Coelodiceras* hingewiesen; ferner läßt sich die allmähliche Herausbildung der äußeren Gitterschale, insbesondere die Umwandlung eines groben, aus oblongen Maschen bestehenden Gitters in ein dichtes Netzwerk mit kleinen, polygonalen Maschen, innerhalb der einen

¹⁾ Vergl. Verh. Deutsch. Zool. Ges. 1904, p. 124 fig. 1.

Gattung *Coelographis* verfolgen; bei *Coelographis* und *Coelotetraceras* treten ferner individuelle Schwankungen hinsichtlich der Zahl der zu Griffeln umgebildeten Skelettröhren hervor; innerhalb der Gattung *Coelodectas* sind die Terminalbildungen der Griffel hinsichtlich der Zahl, Länge und Bedornung der Endäste außerordentlichen Verschiedenheiten unterworfen, ohne daß aber an irgend einer Stelle ein wirkliches, als Sprung aufzufassendes Novum eingetreten wäre; bei *Coelodicteras* schließlich finden sich deutliche Übergänge zwischen dendritenförmigen Seitenästen und ankertragenden Seitenbäumchen. Kurz, es muß für jedes einzelne Merkmal wenigstens innerhalb einiger Formenreihen eine kontinuierliche Entwicklung angenommen werden und spätere Untersuchungen werden sicher dazu führen, daß manche jetzt noch bestehende Lücke geschlossen werden kann. Sind doch allein schon in dem Material der „Valdivia“-Ausbente eine sehr große Anzahl von bisher fehlenden Verbindungsgliedern aufgefunden worden!

Eine Zeitlang bin ich der Ansicht gewesen, daß die individuellen Verschiedenheiten, welche manche Tripylenarten, insbesondere viele Tuscaroren, hinsichtlich der Zahl der Radialstacheln aufweisen, vielleicht als Mutationen im Sinne DE VRIES' bezeichnet werden können.¹⁾ Da indessen wenigstens in einem Falle innerhalb einer Tuscarorenkolonie nebeneinander Individuen von verschiedener Stachelzahl gefunden wurden, so ist es sehr unsicher geworden, ob diesen Varianten die für die Mutationen charakteristische Eigenschaft der Erbllichkeit zukommt, und andererseits zeigen gerade unsere Coelodendriden und Coelographiden hinsichtlich der Zahl und des Ausbildungsgrades der Radialstacheln sehr weitgehende individuelle Schwankungen beziehungsweise Übergänge zwischen Dendriten und Griffelröhren,²⁾ so daß also auch bei diesen Formen eher an eine variative, als an eine mutative Vergrößerung beziehungsweise Verminderung der Stachelzahl gedacht werden muß.

Alles in allem scheinen mir also die Coelodendriden und Coelographiden ein besonders schönes Beispiel für eine kontinuierliche, zum Teil vielleicht durch korrelative Beziehungen einseitig beschleunigte Umwandlung darzustellen.

Was nun fernerhin die Beziehungen der Coelodendriden und Coelographiden zu anderen Radiolariengruppen anbelangt, so möge zu-

¹⁾ Verh. Zool. Ges. 1904, p. 143.

²⁾ Siehe unten die Beschreibung von *Coelographis antarctica*. Auch bei *Coeloplegma murrayanum* und bei *Coelotetraceras* kehren ähnliche Verhältnisse wieder.

nächst ganz kurz auf die weitgehende Konvergenz hingewiesen werden, welche die am meisten spezialisierten Formen, insbesondere *Coelanthemum* (Fig. 13), mit manchen *Astrosphäriden* aufweisen.

Innerhalb der Ordnung der Tripyleen drängt sich sodann in erster Linie ein Vergleich unserer Gruppe mit den gleichfalls zweiklappigen *Conchariden* auf. Indessen stellt es sich bei näherer Betrachtung der Schalenstruktur und der radiären Skelettelemente heraus, daß zwischen den *Coelodendriden* und *Coelographiden* einerseits und den *Conchariden* andererseits keine weitergehende Übereinstimmung besteht und ich möchte es daher nicht für angezeigt halten, nach dem Vorgang HÄCKEL's die drei Gruppen in einer und derselben Abteilung (*Phaeoconchia*) zu vereinigen. Vielmehr scheint es mir zweckmäßig zu sein, für die erweiterte Familie der *Coelodendriden* eine besondere Unterordnung, die der *Phaeodendria*, aufzustellen.

Viel nähere Beziehungen, als zu den *Conchariden*, bestehen, namentlich was den Bau, die Verzweigungsweise und die radiäre Anordnung der Hauptskelettelemente anbelangt, zu den *Aulacanthiden* und zu der neuen Familie der *Astracanthiden*,¹⁾ welch letztere von den *Aulacanthiden* dadurch unterschieden sind, daß die hohlen Radialstacheln im Centrum des Weichkörpers zusammenstoßen und zu einem Stern verbunden sind.

Ein in statischer Hinsicht besonders interessanter Gegensatz tritt uns allerdings beim Vergleich mit den eben genannten Familien in den Weg, nämlich die verschiedene Art und Weise, in welcher der Übergang aus der sphärischen in die bilateral-symmetrische Form vollzogen, beziehungsweise der Versuch gemacht wird, der Konkurrenz, welche zwischen Centralkapsel und radiären Skelettstrukturen bezüglich des Weichkörpercentrums besteht, gerecht zu werden.

Bekanntlich wird bei vielen *Spumellarien*, sowie bei den *Acantharien* dieser Gegensatz in der Weise ausgeglichen, daß die central gelegene Centralkapsel von den Radialstacheln durchbohrt wird. Dagegen schlagen die genannten Tripyleenfamilien sehr verschiedene Wege ein und zwar zeigen speziell die *Astracanthiden* und die Gruppe der *Coelodendriden* und *Coelographiden* extreme Verhältnisse. Während nämlich bei den erstereu die hohlen Radialstacheln im Centrum des Tieres zusammenstoßen und hier miteinander zu einem Stern ver-

¹⁾ V. HÄCKER: Über einige große Tiefsee-Radiolarien. Zool. Anz. Bd. 30, 1906, p. 888.

kittet sind und während bei ihnen durch die Verdopplung der aus dem Centrum verdrängten Centralkapsel ein Gleichgewichtszustand wiederhergestellt wird, sehen wir bei den Coelodendriden und Coelographiden ein umgekehrtes Verhältnis: die Centralkapsel behauptet ihren Platz in der Mitte des Weichkörpers und dafür sind die radialen Skelettelemente auf zwei Centren konzentriert. Eine dritte Abweichung von der monocentrischen Anordnung und zwar, rein morphologisch betrachtet, eine Art Zwischenstufe zwischen dem Verhalten der Astracanthiden und der Coelodendriden-Coelographiden, findet sich bei den dicystinen, d. h. regelmäßig mit zwei Centralkapseln ausgestatteten Aulacanthiden (*Aulographis pandora* n. a.). Hier findet man vielfach, wenn auch nicht immer, daß neben der Duplizität der Zentralkapseln auch die Radialstacheln eine ausgeprägt dicentrische Anordnung anweisen.¹⁾

Während im ganzen die radiären Skelettelemente der Coelodendriden und Coelographiden mit den Radialstacheln der Anlacanthiden und Astracanthiden verglichen werden können und auch die äußere Gitterschale in den subterminalen Astquirlen speziell der Gattung *Aulospathis* ein gewisses Homologon findet, läßt sich für die inneren Schalenklappen der ersteren wenigstens bei den Aulacanthiden und Astracanthiden kein unmittelbares Gegenstück nachweisen. Indessen scheinen mir auch diese Gebilde innerhalb des Formenkreises der Tripyleen kein vollständiges Novum darzustellen, vielmehr möchte ich es für wahrscheinlich halten, daß dieselben als Homologa der provisorischen (embryonalen) Kieselhüllen der Centralkapseln der Challengeriden und Medusettiden (speziell von *Challengeria Naresi* und *Planktonetta atlantica*) anzusehen sind.

Es möge im Anschluß an die stammesgeschichtliche Entwicklung noch eines letzten Punktes, nämlich der ontogenetischen Entstehung des Skelettes der Coelodendriden gedacht werden. Obwohl mir vollständige Entwicklungsreihen fehlen, so vermag ich doch auf Grund zahlreicher Einzelbefunde so viel auszusagen, daß das hochspezialisierte Skelett auch dieser Formen von einer häutigen

¹⁾ Bei all diesen Beziehungen, welche die Skelettstrukturen einerseits der Coelodendriden und Coelographiden, andererseits der Astracanthiden und Anlacanthiden zueinander zeigen, kann es nicht wundernehmen, wenn sich sehr weitgehende Konvergenzen zwischen den beiden Gruppen herausgebildet haben. So erinnert z. B. *Coclanthemum auloceroide* (Fig. 13) im ganzen Anfbau sehr an die Anlacanthiden-Gattungen *Auloceros* und *Aulokleptes*, oder wenn man die äußere Gitterschale mit den subterminalen Astquirlen der Radialstacheln vergleichen will, an manche Formen der Gattung *Aulospathis*.

Grundlage seinen Ausgang nimmt und daß dabei der nämliche Komplex von Wachstums-, Sprossungs- und Abscheidungsprozessen wirksam ist, dem auch bei den Aulacanthiden und anderen einfacher gebauten Formen die Skelettbildung zugrunde liegt. Auf die Rolle, welche der Kern bei diesen Prozessen spielen dürfte, gedenke ich an anderer Stelle ausführlicher zurückzukommen, hier möchte ich nur kurz auf den interessanten Gegensatz hinweisen, in welchem der große, monoton gebaute, aus über tausend gleichförmigen Chromosomen zusammengesetzte und nur an einzelnen Punkten mit dem extrakapsulären Protoplasma in direkter Verbindung stehende Tripyleenkern und der anisotrope, nach verschiedenen Richtungen zu verschiedenenartigen Differenzierungen befähigte extrakapsuläre Weichkörper zueinander stehen. Ich zweifle nicht daran, daß die Kernplasmabeziehungen im weitesten funktionellen Sinne (im „Gegensatz zu der zunächst morphologischen, dimensional „Kernplasmarelation“ im ursprünglichen Sinne R. HERTWIG's) in der polychromosomalen, mehrseitig differenzierten Radiolarienzelle noch andere sind als in der oligo- und heterochromosomalen, meist einseitig differenzierten Metazoenzelle und daß also auch die Ergebnisse der von VERWORN eingeleiteten Versuche an *Thalassicolla*, welche hoffentlich bald eine Wiederholung finden, nicht ohne weiteres auf die Metazoenzelle übertragen werden können.

Anhang. Übersicht über die in der „Valdivia“-Ausbeute gefundenen neuen Formen.

Unterordnung: **Phaeodendria.**

Tripyleen (Phäodarien) mit zweiklappiger, der Centralkapsel dicht anliegender innerer Schale und mit hohlen Radialstacheln, welche helmartigen Aufsätzen der inneren Schalenklappen eingepflanzt sind.

Familie: *Coelodendridae sens. lat.*

1. Unterfamilie: *Coelodorinae.*

Coelodendriden mit Nasal- und Hauptseitenstacheln, meist ohne eigentliche Rhinocanna. Ohne äußere Gitterschale. Hierher: *Coelodoras* HÄCKEL und *Coelodendrum* HÄCKEL.

Coelodicerus n. gen.

Galea im Verhältnis zur Schalenklappe sehr groß, ambosförmig, mit weiter, torbogenartiger oder mit kurzer, schnauzenartiger Rhinocanna. Nasalstachel als Griffel ausgebildet, Hauptseitendendriten stark verzweigt und breit ausladend.

C. spinosum n. sp. (Fig. 4).

Körper parallel zur Apikalebene zusammengedrückt, schmetterlingsförmig. Galea plump-ambosförmig, mit kurzer schnauzenartiger Rhinocanna. Nasalgriffel 2—2,2 mm lang, nahe der Basis stumpfwinklig abgebogen, im basalen Viertel mit zwei größeren Seitenendriten, in der distalen Hälfte mit 10—12 ankertragenden Seitenbäumchen und mit dichotomisch verzweigter, mit zurückgekrümmten Dornen besetzter Terminalbildung. Ankerfädchen mit zwei sichelförmigen Terminalankern und einer subterminalen Gruppe von kurzen Zähnen.

In den südlichen Teilen des Atlantik und Indik verbreitet.

C. macropylum n. sp. (Fig. 10.)

Von voriger Form unterschieden durch die weite und kurze, torbogenartige Rhinocanna (*rh*), durch die längeren (3 mm langen) Nasalgriffel, die schwächere Bedornung der Terminalbildungen und das Fehlen der subterminalen Zähnen an den Ankerfäden.

Ein Exemplar aus dem nördlichen Indik.

2. Unterfamilie: *Coelotholinae*.

Coelodendriden ohne Nasalstacheln, mit Hauptseiten- und Aboralstacheln, mit meist gut entwickelter Rhinocanna und zwei Frenulis. Ohne äußere Gitterschale. Hierher die Gattungen: *Coelotholus* HÄCKEL, *Coelothauma* HÄCKEL und *Coelothamuus* HÄCKEL.

Coelechinus n. gen.

Galea ambosförmig, mit breiter Stirnante, mit typischer Rhinocanna und zwei Frenulis. Jede Galea mit drei Dendriten (zwei Hauptseiten- und einem Aboraldendrit).

C. wapiticornis n. sp. (Fig. 8.)

V. HÄCKER, Verh. deutsch. Zool. Ges., 1904 S. 123 f., Fig. 1.

Die drei Dendriten 5—7 mal gegabelt. Die Gabelung ist meist dichotomisch, doch gehen von der ersten Gabelungsstelle in der Regel

drei Hauptäste ab. Die Endsprossen bilden schmale Gabeln, sie sind zugespitzt und mit freien Dornen besetzt.

Durchmesser: 2,2—2,8 mm.

Diese in der Antarktis sehr häufige Form zeigt eine weitgehende Konvergenz mit dem circäquatorialen, in den wärmeren Meeresgebieten sehr häufigen *Coelodendrum furcatissimum*, für welches sie im südlichen Eismeer vikariierend eintritt.

Coelotetraceras n. gen.

Galea ambosförmig. Nasenöffnung hoch und weit, mit wulstigem Rande, Frenula schwach entwickelt, spangenartig. Hauptseitenstachel als Griffel, Aboralstachel als Dendrit entwickelt.

C. xanthacanthum n. sp. (Fig. 12.)

Hauptseitengriffel mit zwei größeren, in Ankerfädchen auslaufenden Seitenästen und 8—20 kleineren, ankertragenden Seitenbäumchen. Spitzen der Griffel stets gelblich, wahrscheinlich in ankertragende Endbüschel auslaufend.

Bedeutende individuelle Größenunterschiede. Länge der Hauptseitengriffel 0,8—2,4 mm.

In T. St. 54, 112, 218, 239, 268 gefischt, also im ganzen in wärmeren Meeresteilen vorkommend.

3. Unterfamilie: *Coelodryminae*.

Coelodendriden mit Nasal- und Hauptseitendendriten und mit verschieden stark entwickelter Rhinocanna. Äußere Gitterschale vorhanden. Hierher: *Coelodasea* HÄCKEL.

Coelodrymus HÄCKEL.

Gitterschale einfach.

C. lanceolatus n. sp. (Fig. 7.)

Galea pyramidenförmig. Die Rhinocanna stellt einen dreieckigen, gefensterten Vorban dar, welcher an seiner Basis die kraterförmige Nasenöffnung trägt.

Nasalstachel, Hauptseitenstacheln und der schwächer entwickelte Aboralstachel sämtlich als Dendriten entwickelt. Ankerfädchen wenig, denen von *C. anchoratus* HÄCKEL ähnlich.

Durchmesser: 4 mm.

Fundort: T. St. 54 (Guineastrom).

4. Unterfamilie. *Coelothyrsinae*.

Coelodendriden ohne Nasalgriffel, mit Hauptseitengriffeln und mit kurzen Apikal- und Aboraldendriden. Mit gut entwickelter Rhinocanna und mit zwei Frenulis. Äußere Gitterschale vorhanden.

Coelothyrsus n. gen.

Mit den Merkmalen der Unterfamilie.

Coelothyrsus cypridium n. sp. (Fig. 5, 6.)

Gestalt sphärisch bis ellipsoidisch.

Galea ambosförmig, stark nach der Oralseite ausgezogen, in Seitenansicht an die Blüten mancher Labiaten oder Orchideen erinnernd (Fig. 6), häufig mit eingebuchteter Stirnkante und mit im ganzen dreieckiger Oberfläche. Rhinocanna rohrförmig.

Die zwei Hauptseitenröhren jeder Galea sind als außerordentlich verlängerte (mindestens 7 mm lange) Griffel entwickelt. Sie geben innerhalb der äußeren Gitterschale zehn bis fünfzehn Seitendendriden ab, außerhalb der ersteren zahlreiche in drei Längsreihen angeordnete Seitenbäumchen (die Spitzen waren bei sämtlichen Exemplaren abgebrochen). Ein oder zwei Aboraldendriden. Ankerfädchen ähnlich denen von *Coelodrymus*.

Durchmesser eines sphärischen Exemplars 3, längster und kürzester Durchmesser eines ellipsoidischen Exemplars 3,5 und 3 mm.

Fundorte: T. St. 14, 32, 88, 91, 102, 112, 174, 175, 215, 218. In den wärmeren und kühleren Gebieten des Atlantik und Indik verbreitete Form.

5. Unterfamilie. *Coeloplegminae*.

Coelodendriden mit Nasalgriffeln und Hauptseitengriffeln, mit ambosförmiger Galea und meist gut entwickelter Rhinocanna, mit einem Frenulum und mit äußerer Gitterschale.

Hierher: *Coeloplegma* HÄCKEL, *Coelospathis* HÄCKEL, *Coelostylus* HÄCKEL, *Coelagalma* HÄCKEL.

Coelographis HÄCKEL.*C. acuta* n. sp.

Nasalgriffel stark verlängert, mit nacktem, sehr derbwandigem, spießartigem Endabschnitt. Maschen des Gitterwerks vielfach rechteckig. Höhe der äußeren Gitterschale nur 1,5 mm.

T. St. 32 und 85.

C. pusilla n. sp.

Nasalgriffel an der Basis stark abgebogen und infolgedessen außerhalb der Gitterschale stark divergierend, innerhalb der Gitterschale nur mit 3 Paar Seitenästen, außerhalb mit 5 Paar Seitenbäumchen. Endabschnitt nackt, mit zwei dichotomisch gegabelten Ästen und fingerförmigen, fein bedornen Endsprossen.

Höhe der Gitterschale nur 1 mm.

Nördlicher Indik.

C. regina HÄCKEL.

Diese Art fasse ich beträchtlich weiter als HÄCKEL, da sich an denselben Fundorten alle Übergänge zwischen nahezu gleichseitig-dreieckigen, zwischen gestreckt-gleichschenklig-dreieckigen Formen mit tiefem aboralem Schalenausschnitt und zwischen kleinen, pfeilförmigen Typen mit gewölbten Längsseiten und mit mehr oder weniger tiefem aboralem Ausschnitt fanden. Auch die Zahl der inneren Seitenäste der Nasalgriffel (12—30) ist großen individuellen Schwankungen unterworfen.

Offenbar triozeanische (circäquatoriale) Bewohnerin der warmen Meeresteile, an zahlreichen Stationen des tropischen Atlantik und Indik, zum Teil in großer Menge gefischt.

C. palmata n. sp. (Fig. 15a und b.)

? *Coelographis gracillima* BORGERT, 1903.

Terminaläste glatt und mehr oder weniger flächenhaft angeordnet.

Vom Außenrand des Benguelastroms.

C. coronata n. sp. (Fig. 16.)

Terminalbildung der Nasalgriffel flach-kronenförmig mit vier regelmäßig angeordneten, je zweimal gegabelten Ästen. Die Endsprossen sind glatt, entweder zugespitzt oder unterhalb der Spitze mit einem Kranz von vier Dornen versehen (an die Verzweigung der Radialstacheln von *Aulokleptes flosculus tridentatus* erinnernd).

Aus dem Guineastrom.

C. antarctica n. sp. (Fig. 1, 9, 17.)

Von *C. regina* unterschieden durch den breitlanzettförmigen oder nahezu pentagonalen (*Coelodecas*-ähnlichen) Schalenumriß, durch die

meist ausgesprochen kronenartige Ausbreitung der gewöhnlich glatten, kurzen Terminaläste des Nasalgriffels (Fig. 17), und durch die verschiedengradige Neigung der ersten Seitenäste der Hauptseitengriffel zur Griffelbildung (Übergang zum *Coelodecas*-Typus).

In der Antarktis häufig.



Fig. 15a.

Coelographis palmata n. sp.



Fig. 15b.

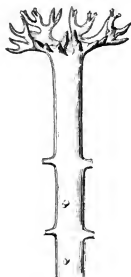


Fig. 16.

Coelographis coronata n. sp.

Coelodecas HÄCKEL.

C. pumilio n. sp. (Fig. 11.)

Umriß breit-eiförmig. Rhinocanna weit und kurz, torbogenartig. Griffel stark verlängert mit stark divergierenden, nahe dem Ende zweimal dichotomisch gegabelten Terminalästen. Endsprossen kurz, knospenförmig.

Höhe der Gitterschale: 1,3 mm.

Fundort: Nördlicher Indik.

C. furcata n. sp. (Fig. 18.)

Im ganzen der sehr häufigen *C. de castyla* HÄCKEL ähnlich, jedoch tragen die Griffel eine Krone mit vier oder fünf fingerförmigen,

glatten, einfachen Endästen, welche an ihrem Ende einen Kranz von vier kurzen, nach außen gerichteten Dornen aufweisen.

Benguelastrom.

C. pygmaea n. sp. (Fig. 19.)

Schalenumriß breit-eiförmig. Griffel mit zwei-, seltener dreimal gegabelten Terminalästen. Die Endsprossen sind sehr lang und schlank, meist wellig gebogen (Fig. 19, links), in ihrer ganzen Länge (Fig. 19, links) oder nur teilweise (Fig. 19, rechts) mit zurückgekrümmten Haken und am Ende mit einer stempelförmigen Verbreitung versehen, welche drei bis fünf kräftige, nach außen gerichtete Zähne trägt.

Höhe der Gitterschale: 1,3–1,5 mm.

Fundorte: T. St. 32, 49, 115, 218.



Fig. 17.

Coelographis antarctica
n. sp.



Fig. 18.

Coelodecas furcata
n. sp.

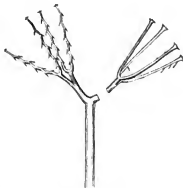


Fig. 19.

Coelodecas pygmaea n. sp.

C. ambulacrum n. sp. (Fig. 20.)

Ausgezeichnet durch die außerordentlich reiche Verzweigung und zierliche Form der Terminalkronen. Diese bestehen aus zwei Terminalästen, welche sich ihrerseits in der Regel viermal dichotomisch gabeln. Die 32 Endsprossen sind verhältnismäßig lang und schlank, mitunter wellig gebogen, mit einigen wenigen kräftigen,

zurückgekrümmten oder gerade abstehenden Seitenhaken und einer flachen, von 5—6 Zähnen gebildeten Endspathille ausgestattet.

Schalenhöhe: 1,8 mm.

Fundorte: T. St. 142, 149 (Antarktis).

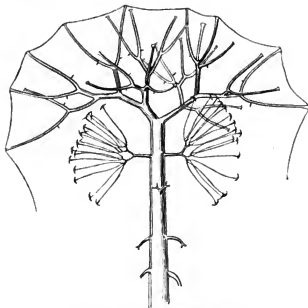


Fig. 20. *Coelodectas ambulacrum* n. sp.

***Coelanthemum* n. gen.**

Nasalstachel in vier, jeder der beiden Hauptseitenstacheln in fünf Griffel gespalten. Im ganzen also 28 Griffel.

C. auloceroide n. sp. (Fig. 13.)

Körper sternförmig. Galea steil-ambosförmig, fast vollständig in der oralen Hälfte der Schalenklappe gelegen, mit kurzer und weiter Rhinocanna und einem Frenulum. Die Verästelung der sämtlichen Griffel ist eine sehr regelmäßige und einfache: innerhalb der Gitterschale geht ein Paar, auf der Höhe der Gitterschale ein zweites Paar von Spangen ab und außerhalb der Gitterschale ist nur ein Paar Seitenbäumchen vorhanden, welche mit ihren zurückgebogenen fadenförmigen Verzweigungen eine flache Kuppel bilden. Die Terminal-

bildungen bestehen aus zwei ein- oder zweimal gegabelten Ästen, deren fein bedornete Endsprossen zwei oder drei kleine Terminalknöpfe tragen. Im ganzen in der Anordnung des Skeletts und insbesondere der Radialelemente sehr an *Auloceros*, *Aulospathis* und andere Aulacanthiden erinnernd.

Durchmesser der äußeren Gitterschale 1,3, des ganzen Skeletts 1,9 mm.

Fundort: T. St. 268 (Nördlicher Indik, 2 Exemplare).

Stuttgart, Dezember 1906.

*Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

Zur Entwicklungsgeschichte der Sporangien bei den Trichien und Arcyrien.

Von

Helene Kränzlin.

(Hierzu Tafel IV und 7 Textfiguren.)

Inhalt.

	Seite
Einleitung	171
I. Das Plasma	172
§ 1. Homogenes und vakuoliges Plasma	174
§ 2. Axiler Strang	174
§ 3. Ringelung	175
§ 4. Stiefelfaltung	175
§ 5. Glashülle	176
§ 6. Unterschiede bei einzelnen Arten	177
II. Die Kerne	180
§ 1. Kerne im Schwärmerstadium (nach JAHN)	180
§ 2. Kerne bei der Endkaryokinese (nach HARPER)	181
§ 3. Karyogamie	181
§ 4. Folgestadien	183
§ 5. Vermutungen über die Reduktion	184
§ 6. Frühere Beobachtungen der Karyogamie	186
III. Die Elateren	187
§ 1. Strahlungscentren	187
§ 2. Ihr Ursprung aus Kernen	189
§ 3. Ihre morphologische Bedeutung	189
§ 4. Vergleich mit Blepharoplasten	192
Schluß: Zusammenfassung der Resultate	192

Einleitung.

Die Bildung der Sporangien eines Myxomyceten aus dem Plasmodium ist in vieler Hinsicht von Interesse. Das formlose Plasmodium erscheint an der Luft und baut in verhältnismäßig kurzer Zeit Fruchtkörper von hoher Entwicklung auf. Es ist ein Vorgang, der in der Welt der Organismen einzig dasteht. Viele Fragen knüpfen sich daran. Wie verhält sich das nackte Plasma gegen die Luft? Was für Strömungen finden in seinem Innern statt? Wie wird der Stiel der einzelnen Sporangien gebildet? Auf welche Weise entstehen die Elateren? und viele andere Fragen.

Bei einzelnen Familien sind Angaben vorhanden. Die Stemoniteen haben de BARY (1) und JAHN (2) untersucht. Das Plasmodium zerfällt hier in Tröpfchen, die künftigen Sporangien. Jedes Tröpfchen legt in seinem Innern einen Stiel an, setzt ihn nach oben fort und klettert dann an diesem Stiel empor. Das fertige Sporangium gleicht einem Bäumchen, in dessen Astwerk die Sporen sitzen. —

Bei den Cribriarien ist der Vorgang ganz anders. Das Tröpfchen sondert eine Membran ab, schnürt diese ein und bildet schließlich, nachdem alles Plasma aus dem so entstandenen Stiel nach oben gezogen ist, seine Sporen in einem schief an dem Stiel hängenden Köpfchen.

Über *Trichia fallax* liegen Angaben von STRASBURGER (3) vor. Der Vorgang der Sporangienbildung hat hier einige Ähnlichkeit mit dem bei den Cribriarien.

Ich habe die Gattungen *Trichia* und *Arcyria* gewählt, die in gewissem Sinne die höchststehenden unter den Myxomyceten sind. Da STRASBURGER'S Arbeit aus einer frühen Zeit stammt, mußte damals vieles trotz sorgfältiger Untersuchung dunkel bleiben, was mit den heutigen Mitteln der mikroskopischen Technik wohl aufgefunden werden konnte.

Das Material war zum größten Teil von Herrn Dr. JAHN im Laufe der Jahre gesammelt. Es war in FLEMMING'S verdünnter Lösung fixiert und in Alkohol aufbewahrt. Für den Teil I der Arbeit kamen Mikrotomschnitte von 5–10 μ Dicke zur Anwendung, die nach FLEMMING'Scher Methode gefärbt wurden. Da sich die meisten Arten nicht kultivieren lassen, fehlen für die Arcyrien Entwicklungsstadien fast ganz. Die zu den folgenden Untersuchungen benutzten Serien gewann ich dadurch, daß ich im Walde selbst fixierte oder die Sporangienhäufchen auf dem Substrat vorsichtig nach Hause beförderte. Nur einmal gelang es mir, *Oligonema nitens*

zu kultivieren. Die auf feuchtgehaltenem Kaninchenmist ansgelegten Sporen bildeten hier plötzlich, nachdem sie wochenlang keinerlei Lebenszeichen gegeben hatten, an mehreren Stellen zugleich Häufchen von Fruchtkörpern von glänzend weißer Farbe und beträchtlicher Größe, die im Laufe eines Tages, soweit sie nicht fixiert wurden, sich zu leuchtend goldgelben Sporangien entwickelten.

I. Teil.

Das Plasma.

Ich beginne mit *Arcyria cinerea* (vgl. Textfig. I). Das junge, sich eben aus dem Plasmodium absondernde Sporangium zeigt die

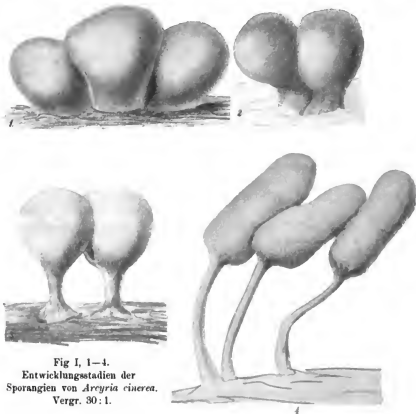


Fig I, 1-4.

Entwicklungsstadien der
Sporangien von *Arcyria cinerea*.
Vergr. 30:1.

Gestalt eines Tropfens. Allmählich erhebt sich die Kugel- zur Cylinderform, und der untere Teil wird eingeschnürt. Das geschieht dadurch, daß die Hauptmasse des Plasmas aus ihm nach oben wandert.

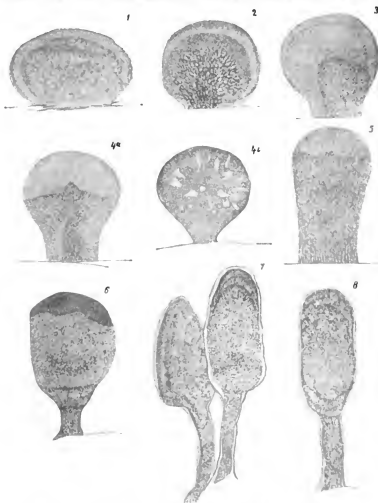


Fig. II, 1-8. Längsschnitte durch Entwicklungsstadien der Sporangien von *Arcyria cinerea*. Vergr. 40:1.

Nun zeigt der zurückbleibende Fuß des Cylinders Schrumpfungserscheinungen, und, seine Membran wie einen geschlossenen Regen-

schirm in Falten zusammenlegend, wächst er noch ein wenig in schwacher Torsion aufwärts, um schließlich als ein scheinbar echter Stiel das inzwischen wieder cylindrisch gewordene Sporangium in die Luft zu erheben. In der Textfig. II, 1—8 sind Längsschnitte durch solche in der Entwicklung begriffene Sporangien dargestellt.

§ 1. Überblickt man die Figuren, so fällt auf, daß sich im Plasma dichtere und vakuolige Partien unterscheiden lassen, und zwar findet sich das dichtere Plasma stets am Rande, während das vakuolige das ganze übrige Sporangium ausfüllt. Daß die homogen erscheinende Schicht zuweilen als Mantel das ganze Sporangium einhüllt und zuweilen als Kappe nur den oberen Teil einnimmt, hängt mit der Stellung des Sporangiums zu seinen Nachbarfruchtkörpern zusammen. Es gehört zur Eigenart der meisten Arcyrien und Trichien, daß ihre Sporangien stets herdenweise auftreten. Stehen nun die Fruchtkörper eines Häufchens so gedrängt, daß sie sich mit ihren Seiten untereinander berühren, so differenziert sich aus dem ganzen Haufen gleichsam nur eine Hülle homogenen Plasmas, und es zeigt sich im Längsschnitt durch einen solchen Haufen, daß die inmitten stehenden Sporangien nur in ihrem oberen Teile, die rechts begrenzten links und die links begrenzten rechts eine Schicht dichteren Plasmas aufweisen. Ganz eingeschlossene Sporangien werden durch die Abb. 4, 5, 6 (Textfig. II) veranschaulicht, während die Abb. 2, 3, 7 den Typus der teilweise begrenzten darstellen. Ein völlig isoliert dastehendes Sporangium findet sich nur in Abb. 1. Einen Grund für die Erscheinung dieser Kappenbildung anzugeben, scheint außerordentlich schwierig. Der Zweck dagegen leuchtet ein: das zarte, im Wachstum begriffene Plasma bedarf einer widerstandsfähigen Außenschicht, um gegen anfliegende Insekten, herabfallende Tannennadeln usw. geschützt zu sein. Dem letzteren Zwecke scheint auch die schon von STRASBURGER erwähnte durchsichtige Cellulosehülle zu dienen, deren Schichten durch Anlagerung von innen nach außen gebildet werden. Ich komme später auf sie zurück.

§ 2. Eine weitere Beobachtung, die man beim Durchgehen der Fig. 1—8 (Textfig. II) macht, ist das wiederholte Auftreten eines axilen Stranges im vakuoligen Plasma (vgl. Abb. 2, 4a u. 5). Er erklärt sich wahrscheinlich folgendermaßen. Das Plasma setzt im Sporangium seine im Plasmodium leicht zu beobachtende Bewegung fort, d. h. es flutet vorwärts, steht still, ebbt etwas zurück und flutet weiter. Am stärksten ist diese Bewegung naturgemäß in der Wachstumsrichtung des Sporangiums; es ist also erklärlich, daß die Plasma-

stränge in der Region, die später den langen Stiel liefern soll, stärker und die Saftvakuolen straffer gerichtet sind als an den Rändern des kugel- oder cylinderförmigen Sporangiums. An zwei Stellen, bei 4a und bei 5, setzt sich der axile Strang mit seiner Spitze in die Kappe dichteren Plasmas hinein fort. Man hat den Eindruck, als mache das bewegtere, vakuolige Plasma der Achsenregion einen Vorstoß in das zähere der homogenen Kappe.

§ 3. Wenden wir unsere Aufmerksamkeit genauer der peripherischen homogenen Plasmaschicht zu, so fällt auf, daß sie nicht nur in verschiedener Stärke auftritt, sondern daß unter der äußeren Kappe zuweilen noch eine zweite (Textfig. II, Abb. 5) oder gar mehrere Kappen liegen (Abb. 7 n. 8), die voneinander durch stark vakuoliges Plasma getrennt sind. In Abb. 4 b fehlt diese Schicht ganz. Man kann annehmen, daß das an die Peripherie gelangte Plasma wenigstens vorübergehend aus der allgemeinen Bewegung ausscheidet. Die darunter liegenden schaumigen Massen drängen aber nach oben und durchsetzen mit ihren in der Wachstumsrichtung vorgehenden Saftvakuolen allmählich die hemmende, zähe Schicht. Etagenweise wird das homogene Plasma durch die Vakuolen abgespalten (Abb. 1, 7, 8) und wieder der Region des pulsierenden zugeführt, während das nunmehr an die Peripherie gelangte vakuolige Plasma seinerseits sich zu einer homogenen Außenschicht verdichtet. Die Wahrscheinlichkeit dieser Annahme wird noch durch ein Stadium wie 4 b erhöht, das während der periodischen völligen Auflösung seines homogenen Mantels gezeichnet ist.

§ 4. Tritt man der Frage näher, „welche Mittel wendet der einzelne Fruchtkörper an, um aus der flachen Tropfenform zu der eines schlanken Cylinders auf noch schlankerem Stiele zu gelangen,“ so richtet sich die Aufmerksamkeit natürlich auf die Entwicklung des Stieles. Dieser zeigt von allen Teilen des Sporangiums die geringste Ähnlichkeit mit der ursprünglichen Tropfenform und muß demgemäß die größten Veränderungen erfahren haben. Daß eine Einfaltung vorlag, ergab schon die genaue makroskopische Betrachtung. Ein in Querschnitte zerlegtes Sporangium zeigt kreisrunde, ein quergeschnittener Stiel stets zackige Umrißlinien. Jedenfalls muß es das Plasma sein, das den Stiel in Falten legt; und diese Faltung muß vom Plasma aus genau reguliert werden, damit ein aufrechter, gleichmäßig dicker Stiel zustande kommt. Man sieht auf Fig. 1 n. 2 der Tafel IV, daß die Membran in stumpfen Winkeln eingebuchtet ist, und daß zwischen den Winkeln regelmäßige Zacken hervortreten. Wie konnten diese aus der ursprünglich auch hier

bestehenden Kreislinie hervorgehen? Doch ohne Zweifel nur dadurch, daß sich Zugkräfte von einem Punkte der Peripherie zu einem benachbarten geltend machten. Und in der Tat findet man bei genauem Suchen in gut mit Safranin gefärbten Schnitten durch die Übergangsregion vom Stiel zum Sporangium von einer Einbuchtung zwischen zwei Zacken zur nächsten zarte Plasmastränge, denen eine derartige Funktion obzuliegen scheint. Der Schnitt durch *Arcyria cinerea* (Taf. IV Fig. 1) ist etwas tiefer durch den Stiel geführt als der auf Fig. 2 dargestellte durch *Trichia fallax*, was aus der krauseren Einfaltung von 1 zu sehen ist. Beide Abbildungen zeigen aber das Gemeinsame, daß von Bucht zu Bucht feine Fibrillen laufen. Die Plasmapartikelchen, die diese Fibrillen bilden, speichern stark Safranin; weiteres läßt sich ihrer außerordentlichen Zierlichkeit wegen nicht über sie aussagen. Ihre Bedeutung ist klar: sie dienen zur Regulierung der Stiefaltung. Im Verlauf der Sporangienbildung hat das Plasma einen starken Drang nach oben und strebt danach, die Stielregion zu verlassen (Textfig. II, 5). Es reißt die auf einen kleineren Durchmesser zurückweichende Stielmembran mit und faltet sie in regelmäßiger Weise ein, wie das vorher durch Anlage der Fibrillen vorbereitet ist. Ich nehme an, daß die in Textfig. II, 4 u. 5 zu beobachtende dunkle Bänderung in der Übergangsregion mit diesen Vorgängen in Beziehung zu setzen ist; auch das dicht über dem Fuß bei 6 sichtbare Band wird so zu deuten sein. Auf Querschnitten ist es mir nie geglückt, in dieser Tiefe noch Fibrillen zu sehen; doch beweist dies noch nicht ihre Nichtexistenz, denn es ist praktisch unausführbar, bei dem immerhin langen, völlig gleich dicken Stiele genau zu wissen, aus welcher Höhe der Schnitt ist, den man vor sich hat.

§ 5. Die eben beschriebenen Einfaltungsvorgänge betreffen aufs engste auch die Glashülle der Trichien und Arcyrien. Diese, aus einer der Cellulose ähnlichen Masse bestehende Schicht wird, wie wir seit STRASBURGER wissen, durch Anlagerung vom Plasma aus gebildet. Sie ist im Leben schön glasartig durchsichtig und überzieht wahrscheinlich zum Zweck des Schutzes das ganze Sporangium schon in seinen jugendlichen Stadien. Auf dem Scheitel des Sporangiums ist sie nur zart, während sie seitlich, besonders sobald ein Stiel besteht, eine kräftige Hant darstellt, die unten in den Hypothallus übergeht. Im Querschnitt zeigt sie durchweg einen lamellosen Bau (Fig. 3 auf Taf. IV). STRASBURGER macht in seiner vorhin schon erwähnten Arbeit S. 312 darauf aufmerksam, daß sich häufig zwischen den einzelnen Lamellen Reste degenerierten

Plasmas vorfinden. Ich kann diese Angabe wenigstens für die Stielregion bestätigen und erkläre sie folgendermaßen: Stellen wir uns vor, daß die Fibrillen von Bucht zu Bucht lebhaft Zugwirkungen ausüben, die, wie oben erwähnt, noch durch den Zug des Plasmas verstärkt werden, so kann es leicht kommen, daß die zu passiver Faltung gezwungene Glashülle genügend starke Falten wirft, um ein dazwischenliegendes Plasmazipfelchen von der Falte, der es angehört, zu trennen. Lagert sich nun eine weitere Lamelle vom Plasma ausgehend, der Glashülle an, so ist das abgerissene Zipfelchen von jeglichem Zusammenhang mit der Hauptmasse abgeschnitten und muß, trotzdem es noch einige Zeit weiterlebt, zugrunde gehen. Dieser Vorgang ereignet sich zu verschiedenen Malen; denn da die neue Membranallemelle immer der jeweiligen Umrißlinie des Plasmakörpers entspricht, die Fibrillen aber ihre Tätigkeit fortsetzen, wird die Hülle immer von neuem geübt, Falten zu schlagen, bis die endgültige Querschnittsform des Stieles erreicht ist. Ein Gegensatz zur Stielbildung der Cribrariaceen stellt sich heraus: nicht alles Plasma wird aus dem Stiel nach oben gezogen, vielmehr bleibt ein beträchtlicher Teil des Plasmas im Stiel zurück und wird der Sporenbildung entzogen. Zwar beteiligt es sich an allen im Sporangium erfolgenden Veränderungen, aber es liefert keine normalen einkernigen Sporen. Textfig. III, 1 zeigt ein Stück aus dem Sporangium, Textfig. III, 2 ein solches aus dem Stiel derselben *Arc. cin.* Während bei 1 die fast fertigen Sporen zwischen den Elateren liegen, sieht man bei 2 in stark kontrahiertem Zustande unförmige, vielkernige Klumpen liegen. Dieser Fall der Aufopferung, eigentlich zur Fortpflanzung befähigten Materials zum Zwecke der Stielbildung erinnert an Vorgänge bei weit primitiveren Organismen als die Myxomyceten sind, an die Acrasieen.

§ 6. In bezug auf die Stärke und Ausbildung ihrer Glashülle verhalten sich die Arcyrien und Trichien nicht völlig gleich. Auch innerhalb dieser Gattungen finden sich Verschiedenheiten der Glasmembran, die wohl wert wären, bei der systematischen Gruppierung der Arten eine Rolle zu spielen.

Vergleicht man ein reifes Arcyriensporangium mit dem einer *Trichia*, so fällt folgendes ins Auge: Die Arcyrien haben einen deutlich abgesetzten Kelch, aus dem das zarthäutige Sporangium aufsteigt, während den Trichien ein besonders differenzierter Becher am Grunde fehlt. Ihre ganze Hülle wird kelchartig angelegt und bei der Reife unregelmäßig durchbrochen. Die Untersuchung von Längsschnitten zeigt, daß die Arcyrien im allgemeinen ihr

Sporangium mit einer schwächeren Glashülle umgeben als die Trichien. Innerhalb der Gattung *Arcyria* haben naturgemäß die zarteren Arten wie *Arcyria pomiformis* auch zartere Glashüllen als z. B. *Arcyria nutans*. Die größere Länge des Stieles

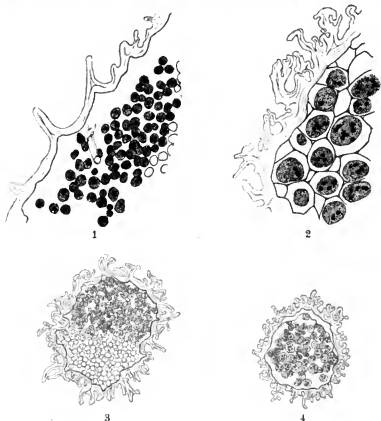


Fig. III, 1-4.

- 1) Stück aus dem Querschnitt durch ein Sporangium von *Arcyria cinerea*.
- 2) " " " " " den Sporangienstiel von *Arcyria cinerea*.
- 3) Querschnitt durch die Übergangsregion vom Stiel zum Sporangium.
- 4) " " " " den Stiel von *Arcyria cinerea*.

Vergr. bei 1 u. 2 500:1. Vergr. bei 3 u. 4 200:1.

scheint bei gleicher Länge des Sporangiums eine stärkere Ausbildung der Glashülle zu bewirken. So findet sich bei *Arcyria incarnata* eine schwächere Glashülle als bei *Arcyria punicea*. Ist das Sporangium

anfällig kurz wie bei *Arcyria pomiformis*, so findet sich trotz eines langen Stieles nur eine sehr zarte Glasmembran. *Arcyria cinerea* und *nutans* haben mittelstarke Glashüllen. Eine Ausnahmestellung nimmt *Arcyria ferruginea* ein, die sich ja auch sonst noch durch ihre auffallend großen Sporen ($9-11\ \mu$) auszeichnet. Ihre Glashülle ist bedeutend stärker als die der anderen Arcyrien, so daß sie an die Trichien erinnert. — Die in der Systematik zwischen *Trichia* und *Arcyria* stehende Gattung *Hemitrichia* gehört auch in bezug auf ihre Glasmembran an diese Stelle. Textfig. IV veranschaulicht ein nahezu reifes Exemplar mit kräftig ausgebildetem Stiel, das im Begriff ist, seine Hülle zum Zweck der Sporenausstreuung zu sprengen. Die dünne Stelle in der nach oben zu immer schwächer werdenden Membran zeigt, daß die Sprengung mit einem Einriß am Scheitel beginnen wird. — Eine ebenso starke Ausbildung der Glasmembran wie *Hemitrichia*



Fig. IV. Längsschnitt durch *Hemitrichia clavata*. Vergr. 40:1.



Fig. V. Medianer Längsschnitt durch *Perichaena populina*. Das Plasma ist segmentiert zur bevorstehenden Sporenbildung. Vergr. 20:1.

zeigt *Trichia fallax*, diejenige Trichiacee, die den längsten Stiel besitzt und sich dadurch makroskopisch von der sonst äußerlich ähnlichen *Trichia varia* unterscheidet. *Trichia varia* und *persimilis* mit sitzenden oder nur ganz kurz gestielten Sporangien haben auch entsprechend dünnere Glashäute. Ebenso zart, wenn auch verglichen mit Arcyrien immer noch ansehnlich, ist die Glashülle bei den in Haufen auftretenden Sporangien der Trichiacee *Oligonema nitens*.

Abseits in Form des Sporangiums wie in der Beschaffenheit der Glashülle steht die den Arcyriaceen nah verwandte Gattung *Perichaena*. Textfig. V zeigt einen medianen Längsschnitt durch ein fast reifes Sporangium von *Perichaena populina*. Das ganze Sporangium macht den Eindruck eines Hutes mit stark aufgebogener

Krämpfe. Die Glasmembran ist hier sehr zart und umzieht nur als feines Häutchen den Fruchtkörper; aber an ihrer Außenseite scheidet sie eine stark körnige, sich gelblich färbende Schicht ab, die an die Kalkkörnchen in der Membran der Physareen erinnert. Da reife Perichaenensporangien stets den Eindruck einer offenen tiefen Schale machen, ist anzunehmen, daß bei der Sprengung der Hülle der ganze innere Teil, also der Kopf des Hutes, abgehoben wird.

II. Teil.

Die Kerne.

§ 1. Nach dem bisherigen Stande unserer Kenntnisse haben die Kerne im Entwicklungsgange eines Myxomyceten folgendes Schicksal: Bald nach der Keimung der Spore tritt eine Teilung der Schwärmer ein, bei der sich der Kern mitotisch teilt. Diese Teilung ist zuerst von LISTER (4), später von JAHN (5) verfolgt worden. Es sprießt dabei, wie JAHN gezeigt hat, aus den Polen der Teilungsspindel je eine Geißel hervor, die den Tochterindividuen als Bewegungsorgan dient. Die stark färbbaren Punkte an den Spindelpolen, von denen die Geißeln ihren Ursprung nehmen, sieht JAHN als Centrosomen an. Es ist bemerkenswert, daß diese Teilung als eine regelmäßige, in der Entwicklung des lebenden Schwärmers selbst liegende erscheint. Sie setzt nicht etwa erst dann ein, wenn die Schwärmer durch Nahrungsaufnahme und Wachstum zu groß geworden sind, sondern sie erfolgt gleichmäßig bei allen bestimmten Zeit nach der Keimung. Schon DE BARY hat angegeben, daß bei *Didymium* noch in der Sporenhülle eine solche Teilung stattfindet. JAHN's Beobachtungen beziehen sich auf *Stemonitis flaccida*. LISTER (p. 540) hält es nicht für ausgeschlossen, daß die Schwärmer sich mehrfach teilen. Über die schließliche Verwandlung der Schwärmer in Amöben wissen wir zurzeit noch nichts. Es steht nur fest, daß die plötzlich geißellos gewordenen Individuen sich zusammenrotten und ein Plasmodium bilden. In diesem Stadium erfolgen abermals mitotische Kernteilungen. Es war dies bei der oft beträchtlichen Größenzunahme der Plasmodien von vornherein anzunehmen; nachgewiesen ist es jedoch bis jetzt nur von LISTER für *Badhamia utricularis*. Eine amitotische, direkte Kernteilung, die noch LISTER in der vorher erwähnten Arbeit, allerdings unter Vorbehalt, für Plasmodien beschreibt und abbildet, findet sich, soweit meine Einsicht

reicht, bei den Myxomyceten nicht. LASTER's Abbildung 2b scheint mir eine andere Deutung zu erfordern.

§ 2. Das Plasmodium bildet schließlich einzelne Sporangien aus, deren Kerne erst wieder unmittelbar vor der Sporenbildung zu einer mitotischen Teilung schreiten. Ich halte mich bei der folgenden Beschreibung dieses Vorganges an die Angaben von HARPER (6) über *Fuligo varians*. Der ruhende Kern zeigt eine Membran, Chromatin und einen Nukleolus, der wie in den Schwärmern von einem hellen Hofe umgeben ist. Im Äquatorialstadium sieht HARPER deutliche Spindeln mit stark färbbaren Polen; die Chromosomenzahl meint er bei *Fuligo* auf 12 festsetzen zu können. In den Polarplattenstadien konnte HARPER die Chromosomen nicht mehr zählen, da sie alle gleichzeitig wandern und stets dicht zusammengedrängt liegen. Die Spindelpole bleiben noch geraume Zeit sichtbar, während der Nukleolus sehr früh schwindet. — Die Kernverhältnisse des Schwärmerstadiums und die des zur Sporenbildung schreitenden Sporangiums haben, wie aus dem Gesagten hervorgeht, genaue Bearbeitung erfahren; die dazwischen liegenden Entwicklungsstufen sind jedoch vollständig vernachlässigt worden. Die folgende Mitteilung hat den Zweck, diese Lücke auszufüllen.

Auch für diese cytologischen Arbeiten benutzte ich zum größten Teil von Herrn Dr. JAHN gesammeltes Material. Die $5\ \mu$ starken Schnitte wurden nach HEIDENHAIN gefärbt und aufs genaueste differenziert. Ich werde im folgenden die Kernvorgänge der *Arcyria cinerea* beschreiben, um den Vorteil zu haben, bei Angabe der Entwicklungsphase der Sporangien auf die als Textfiguren abgebildeten Längsschnitte verweisen zu können. Dieselben Untersuchungen wurden mit dem gleichen Resultate an *Arcyria nutans*, *Arcyria pomiformis*, *Trichia fallax*, *Trichia persimilis* und teilweise auch an *Oligonema* gemacht. Die Textfig. VI, 1—5 sind durch das Prisma gezeichnet.

§ 3. Das junge Sporangium in Tropfenform zeigt durchweg gleich große, stark färbbare Kerne. Das Chromatin darin ist so stark zusammengeballt, daß es fast nie glückt, einen Nukleolus oder sonst Struktureinzelheiten darin zu erkennen. Das Verhalten der Kerne ändert sich jedoch in den zur Cylinderform übergehenden Sporangien. Während sie im vorher erwähnten Stadium gleichmäßig durch den ganzen Plasmakörper verteilt sind, sieht man nun, daß sie in der Randregion (jedoch fast ausnahmslos um etwa zwei Kernbreiten von der Peripherie entfernt) näher zusammenrücken, so daß kernreichere und kernärmere Partien entstehen (vgl. Textfig. VI, 1). Der Chromatingehalt des Kernes lichtet sich etwas, so daß ein

Nukleolus sichtbar wird. Zwei Kerne nähern sich nun und legen sich Wand an Wand dicht zusammen (2). Ich glaube richtig zu gehen, wenn ich LISTER's Fig. 2b von *Trichia fragilis* auf eine der eben beschriebenen analoge Erscheinung deute. Die erst entfernt voneinander liegenden Nukleoli rücken ebenfalls nach der Berührungsstelle; alsbald sieht man die Wand aufgelöst und der Inhalt beider Kerne fließt zusammen (Textfig. VI, 3). Eine Zeitlang scheinen die zwei Nukleoli noch getrennt zu bleiben, bis sie schließlich zu einem

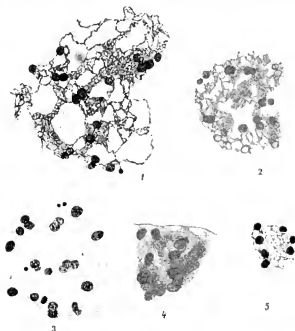


Fig. VI, 1—5. Fusionierende Kerne von *Arcyria cinerea* in verschiedenen Stadien. Vergr. 1000:1.

verschmelzen; wenigstens sieht man in einem Gesichtsfeld Fusionskerne mit zwei und mit einem Nukleolus. Vom Raude des Sporangiums aus schreitet die Fusion der Kerne nach der Mitte zu fort. Am spätesten fusionieren die Kerne der Axenregion, vermutlich weil das Plasma dort am lebhaftesten strömt. Der Fusionskern, der gleich nach dem Verschmelzungsakt nicht mehr als die zu erwartende Vergrößerung gezeigt hatte (3), beginnt einige Zeit danach mächtig anzuschwellen (4). Untersucht man ein Präparat dessen Stadium

deutenden Größe an, daß, obgleich die Fusion noch nicht vollendet ist, das Chromatin schon einen geordneteren Eindruck macht als bei 6. In 8 sieht man bei ebenfalls riesigem Volumen einen kleinen Nukleolus und zu langen Bändern gefügtes Chromatin. Ein noch fortgeschrittenes Stadium zeigt Fig. 9. Ich sehe in den beiden letzten Bildern, (8 u. 9) ein „Synapsis“-Stadium. Ist die Synapsis als solche da, was aus den folgenden Bildern noch deutlicher hervorgeht, so ist mit einem Schlage aus der oben abgebildeten Kernfusion eine Kopulation geworden, und es fragt sich nun, welcher Art diese Kopulation ist. Offenbar hat man es hier mit einer totalen Karyogamie, und zwar einer Homogamie zu tun. Einen Unterschied zwischen den kopulierenden Kernen zu entdecken, ist mir nicht gelungen.

Ich bin nun ferner der Ansicht, daß auf die Karyogamie sofort eine Reduktion folgt. — Der lange Zeit geschwollen erscheinende Synapsiskern kommt allmählich auf eine normale Größe und zeigt nun plötzlich in häufig wiederkehrenden klaren Bildern das Stadium 10 u. 11. Die acht Doppelchromosomen wirken befremdend. Das Bild macht durchaus den Eindruck einer Diakinese, und man fühlt sich versucht, von den acht Doppelchromosomen je acht von einem der vorher verschmolzenen Kerne α und β abzuleiten. Das Bild würde dann das Stadium wiedergeben, wo die in der Synapsis vereinigt gewesen, einander entsprechenden Chromosomen von α und β sich von einander lösen. Wenn Fig. 10 u. 11, wie nach dem Vergleich mit anderen Bildern anzunehmen ist, tatsächlich dieses Stadium darstellen, so wäre die Chromosomenzahl der 2x-Generation bei den Myxomyceten 16. — Es fällt nun auf, daß die jetzt zu erwartende Teilung ausbleibt. Der Kern hüllt sich bald nach diesem Stadium in völliges Dunkel. (Bilder wie Fig. 12 zeigen sich nicht so häufig, daß man sie mit Sicherheit als ein Folgestadium von Fig. 10 bezeichnen könnte.) Erst etwa 12 Stunden nach dem Auftauchen der Bilder 9 u. 10 tritt die Endkaryokinese auf. Wäre es mir hier gelingen, Vierergruppen oder Ringe zu entdecken, so würde ich nicht zögern, die oben skizzierte Annahme für richtig zu halten. Leider habe ich aber trotz reichlichen Materials an karyokinetischen Bildern dieses Stadiums niemals in die Einzelheiten des Vorganges eindringen können.

§ 5. Wenn ich trotzdem eine Vermutung äußern darf, so ist es diese: Die vor der Sporenbildung liegende Karyokinese ist als heterotypische anzufassen; der Schwärmerteilung fällt die Reduktion der Chromosomen zu. Die Myxomyceten gehörten demnach zu den

wenigen Lebewesen, die fast während ihres ganzen Lebens mit 1 x-Chromosomen ausgestattet wären.

Es können manche Bedenken gegen die geäußerte Meinung aufsteigen. Man könnte sagen: so charakteristische Bilder wie Vierergruppen in der Spindel müßten, falls sie überhaupt vorhanden sind, zu sehen sein. Ich erwidere: das Vierergruppenstadium fällt aus. Die erste Teilung geht wahrscheinlich in Form einer Äquationsteilung vor sich. Die längsgespaltenen acht Chromosomen (reduzierte Zahl) verdicken sich nicht und brechen nicht durch eine transversale Teilung in vier Segmente auseinander, sondern sie behalten wahrscheinlich ihre Gestalt bei der ersten Teilung und trennen sich wie bei einer gewöhnlichen Mitose von der Mitte nach den Enden fortschreitend. In der zweiten Teilung, die erst nach beträchtlicher Pause erfolgt, nämlich im Schwärmerstadium, spalten sich die Chromosomen abermals längs im rechten Winkel zur ersten Teilungsebene und lassen so jedem neugebildeten Individuum nur die halbe Chromosomenzahl. Die eben ausgesprochene Annahme gründet sich auf folgende Tatsachen: Es steht fest, daß auf die Verschmelzung der Kerne ein Synapsisstadium folgt; ebenso sicher ist das Vorkommen der Diakinese. — Weiter ist zwar auffallend, aber doch völlig außer Zweifel, daß die Karyokinese, die der Sporenbildung vorausgeht, eine einfache ist, d. h. daß sämtliche Teilungsbilder auf einen einmaligen, bei allen Kernen gleichzeitig auftretenden Teilungsakt zurückgehen.

Es liegt nahe und scheint sogar erforderlich, die erste Schwärmerteilung an die genannte Karyokinese anzuschließen. Der Grund dafür ist die von JAHN mit völliger Sicherheit gemachte Angabe, daß die Teilung der Schwärmer bestimmte Zeit nach der Sporenkeimung resp. noch in der Sporenhülle eintritt und ganz unabhängig von den etwaigen Größenverhältnissen des Schwärmers ist. Daß bei Organismen, die eine regelmäßige Kopulation haben, an irgend einem Punkte des Zeugungskreises eine Reduktion stattfinden muß, ist heute erwiesen. Auch das Eintreten einer langen Pause zwischen beiden Teilungen und das Ausbleiben von Tetradenbildungen in der der Reduktionsteilung vorangehenden Karyokinese ist, nachdem Darstellungen wie die von MEWES (96) „Über die Entwicklung der männlichen Geschlechtszellen von *Salamandra*“ und von MCGREGOR über die „Spermatogenesis of *Amphiuma*“ oder von MOORE „Structural changes in the reproductive cells of Elasmobranchs“ existieren, nichts Unerhörtes mehr. Befremdend aber und ungünstig für die aufgestellte Hypothese wirken die Bilder aus der Schwärmerteilung von *Stemonitis flacc.* in der erwähnten Arbeit von JAHN. Die Zahl

nicht alles, was die Bilder zeigen, vermag ich zu deuten, setze sie aber trotzdem als getreue Wiedergabe der Befunde hierher, in der Hoffnung, daß vielleicht später sich ein Aufschluß findet.

Fig. 14 zeigt inmitten des vakuoligen Plasmas eine Sternform aus homogen erscheinendem; die Strahlen des Sternes sind genau radial auf den Mittelpunkt gerichtet, der wie ein kleiner, außerordentlich schwarzgefärbter Kern den Blick auf sich zieht. Am Rande des Sporangiums ist die Strahlung einseitig. 14 b aus einem anderen Schnitt zeigt offenbar schon ein fortgeschritteneres Stadium. Ob die inmitten der Scheibe liegenden drei Punkte durch Teilung oder Zerfall des vorher einheitlichen Mittelpunktes entstanden sind, vermag ich nicht zu sagen.

Fig. 15 bringt ein äußerst wichtiges neues Moment: Im Plasma liegen frei, resp. an Fäden hängend, Chromatinstücke, die die typische Gestalt von Chromosomen haben; außerdem zeigt sich, daß die vorher bemerkte Strahlung nicht nur aus fein ausgezogenen Plasma-streifen besteht, sondern daß zarte, fibrillenartige Stränge vorhanden sind, die weit über die Plasmastrahlung hinausreichen. Die Chromosomen zeigen eine scharf umrissene rübchenartige Gestalt und sind teils um ein Centrum geschart, teils in einer langen Reihe angeordnet. Der Schnitt ist aus der Mitte des Sporangiums, während der Kern mit den dicken T-förmigen Chromosomen aus der Randgegend stammt. In einem erst zufällig ganz weiß gebeizten Schnitte fanden sich die Bilder 15 b. Natürlich vermutete ich, die bekannte Endkaryokinese vor mir zu sehen, wurde jedoch anderer Meinung, als ich den vorliegenden Schnitt mit meinen Arcyrien- und Trichienpräparaten verglich, die dieses Stadium aufweisen. Die Unterschiede waren bedeutend: Erstens tritt die Endkaryokinese bei allen Kernen fast gleichzeitig auf — hier waren etwa 3 Proz. der Kerne in Spindelform. Zweitens zeigen die Endkaryokinesen höchst selten die zugespitzte Form, gehen vielmehr sofort und für geraume Zeit in die Tonnenform über — hier war nicht eine Tonne zu sehen. Drittens war auffällig, daß niemals eine regelrechte zweipolige Spindel zu sehen war, sondern stets nur ein Pol mit deutlichem Polkörper, und endlich stellte sich heraus, daß entsprechend entfarbte Folgestadien keine Spur mehr von spindel- oder tonnenförmigen Karyokinesen zeigten.

Nach dem Abschluß der Untersuchungen über *Oligonema* ist es mir gelungen, in einer neuen Serie von *Arcyria*-Präparaten Bilder zu finden, die genau den eben beschriebenen entsprechen. Die Karyogamie war vorüber. Die Elaterenbildung scheint hier demnach

auf derselben Entwicklungsstufe und in derselben Weise zu erfolgen wie bei *Oligonema*.

§ 2. Meine Vermutung geht nun dahin: Ein Teil der kopulierten Kerne wird zur Elaterenbildung verwandt und macht zu diesem Zwecke eine heteropole Karyokinese durch. Nur aus einer Teilungsfigur können auch die rüßchenförmigen Chromosomen stammen. Allerdings muß ich, um die im folgenden dargelegte Deutung geben zu können, eine kleine Umstellung der Stadien vornehmen. Der Wahrscheinlichkeit meine ich dadurch keinen Abbruch zu tun, da es wohl vorkommen kann, daß in einer großen Schar von Sporangien nicht

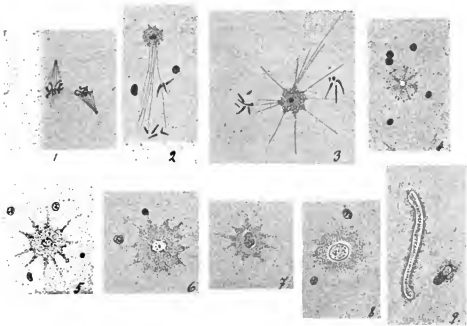


Fig. VII. 1—9. Stadien der Elaterenbildung bei *Oligonema nitens*, etwas schematisiert.
Vergr. 1000 : 1.

alle gleich weit entwickelt sind, also das um 10 Uhr fixierte unter Umständen ein vorgeschrittenes Stadium zeigen kann als ein um 11 Uhr fixiertes. Die meine Deutung stützenden Bilder sind als Textfigur VII, 1—9 etwas schematisiert wiederholt.

Bild 1 zeigt, daß die Karyokinese nur einpolige Spindeln liefert. Das Centrosom wird zum Strahlungscentrum und entfernt sich, die

versen gibt. Es lassen sich nach IKENO drei Arten von Blepharoplasten unterscheiden:

I. Centrosomatische Blepharoplasten sind solche, welche entweder onto- oder phylogenetisch centrosomatischen Ursprungs sind; soweit untersucht, gehören fast alle Blepharoplasten zu dieser Kategorie: Myxomyceten, Lebermoose, Gefäßkryptogamen, Gymnospermen.

II. Plasmodermale Blepharoplasten. *Chara*, einige Chlorophyceen.

III. Karyo- oder Kernblepharoplasten. Nur bei einigen Flagellatengattungen.

Es ist klar, daß der Blepharoplast oder besser „Elateroplast“, von dem die Elateren der Myxomyceten ihren Ursprung nehmen, der ersten Gruppe angehören, sahen wir ihn doch in der Textfig. VII, 1 als echtes Centrosom am Spindelpole liegen. Er ist demnach nicht nur phylogenetisch, sondern zweifellos auch ontogenetisch einem solchen gleichzusetzen. — Es gibt überkritische Beobachter, die etwa mit WEBBER (11) BELAJEFF'S (12) Blepharoplasten bei der Spermatogenese von *Marsilia* nicht als gleichbedeutend mit Centrosomen gelten lassen wollen, weil die Strahlungen nur nach der Richtung des Zellkernes und nicht nach der anderen Seite gehen. Auch sie werden angesichts der deutlich allseitigen Strahlen in dem hier behandelten „Elateroplasten“ ein dem Centrosom völlig identisches Gebilde sehen müssen. Dazu kommt, daß JAHN in seiner Arbeit über die Schwärmerteilung der Myxomyceten die Entstehung der Geißel aus dem Centrosom nachgewiesen hat.

Von allen bis heute über den Gegenstand der Geißelbildung aus Blepharoplasten erschienenen Bildern kommen diejenigen von SHAW (13) über *Marsilia vestita* den meinen am nächsten. Hier entsteht die Geißel nicht wie bei der von IKENO (14) behandelten *Marchantia* an dem Blepharoplasten, sondern der Blepharoplast selbst verwandelt sich in eine Geißel. SHAW äußert zwar die unhaltbare Ansicht, daß der Blepharoplast in eine Gruppe kleinerer Körner zerfalle, durch deren Aneinanderreihung das spiralige Band entstünde; aber seine Bilder, besonders Fig. 18 u. 19, zeigen, daß sich der Vorgang ähnlich abspielt wie bei der Entstehung der Myxomycetenelateren aus Elateroplasten. — Es macht sich in den erwähnten Stadien, also lange nach der Karyokinese, eine enge Beziehung zwischen dem Blepharoplasten und dem Kern bemerkbar, die sich darin ausdrückt, daß der Kern die Wanderung des Blepharoplasten nach der Zellmembran mitmacht. Bei den Myxomyceten findet allem Anschein nach auch eine Bewegung des Elateroplasten statt, wenn sie auch bei dem Mangel einer Raumeinteilung im Sporangium nicht

Fig. 3. Querschnitt durch ein Stück der Glashülle eines Sporangiums von *Arcyria cinerea*. Lamellöser Bau. Vergr. 1200:1.

Fig. 4—13. Entwicklungstadien der Kerne. Gefärbt mit Eisenhämatoxylin. Vergr. 5000:1.

Fig. 4. Kern vor der Fusion.

Fig. 5—7. Fusionsstadien.

Fig. 8 u. 9. Synapsis.

Fig. 10 u. 11. Diakinese.

Fig. 12. Gürtelhandstadium nach der Diakinese.

Fig. 13. Degenerierender Kern.

Fig. 14—23. Entwicklungstadien der Elateren bei *Oligonema nitens*. Färbung Eisenhämatoxylin. Vergr. 800:1.

Fig. 14 a. Strahlung ausgehend von dem Elateroplasten.

Fig. 14 b. Fortgeschrittenes Stadium.

Fig. 15 a. Strahlung des Plasmas und Fibrillen ausgehend von Elateroplasten.

Fig. 15 b. Heteropole Spindeln.

Fig. 16. Plasmastrahlung nm aufgeblähte Elateroplasten.

Fig. 17. Die Plasmastrahlung nimmt ab, Beginn der Membranbildung.

Fig. 18. Dasselbe im fortgeschrittenen Stadium.

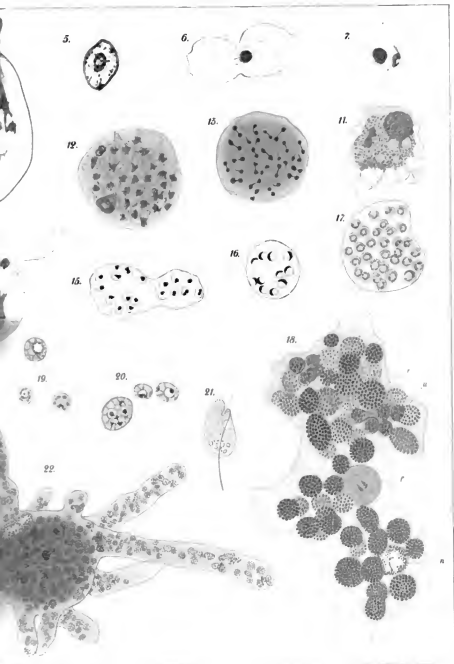
Fig. 19. Die Plasmastrahlung hört auf. In der längsgeschnittenen Elatere ein Mittelband von körnigem Inhalt.

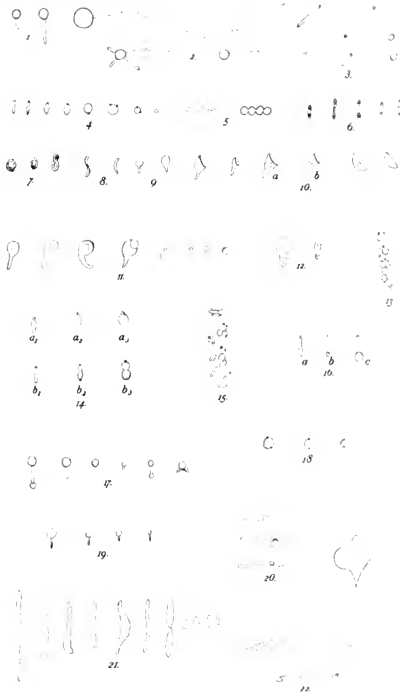
Fig. 20. Der Elaterenquerschnitt zeigt ausgebildete Membran.

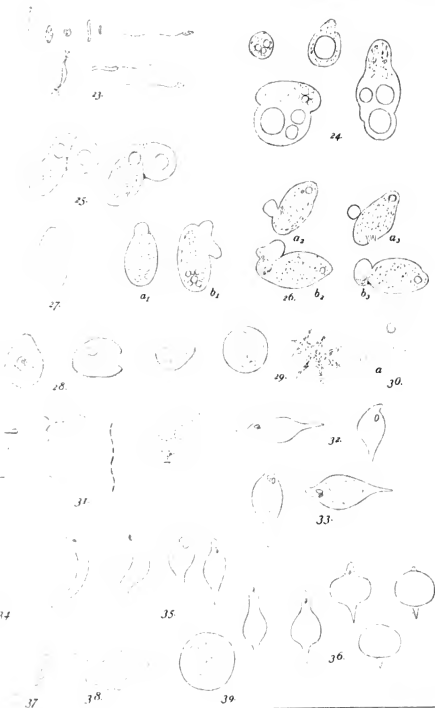
Fig. 21. Fertige Elateren, das Plasma segmentiert sich zur Sporenbildung.

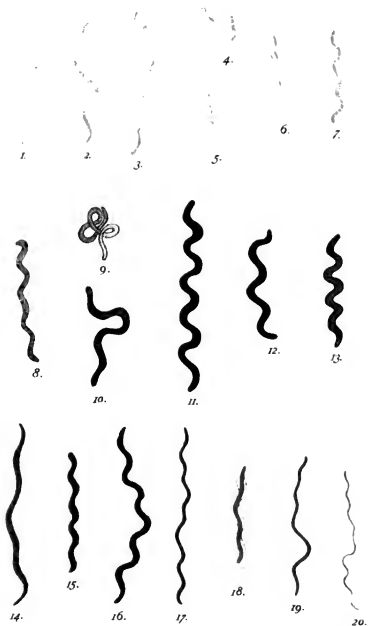
Fig. 22. Dasselbe.

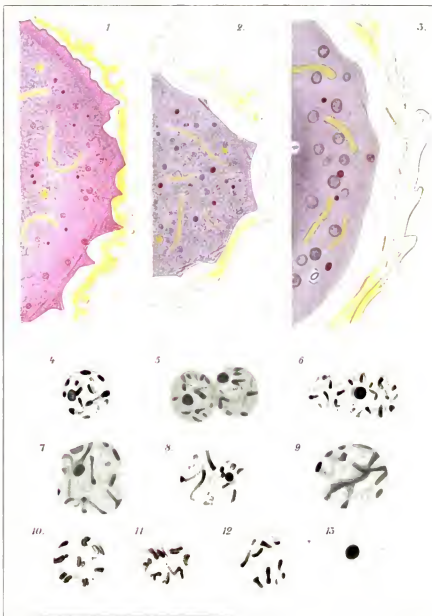
Fig. 23. Ausgebildete Elatere aus einem reifen Sporangium.













La coniugazione e il differenziamento sessuale negli Infusori.

Paolo Enriques (Bologna).

(Colle tavole V—VIII e 2 figure nel testo.)

Indice.

	pag.
I. Introduzione	196
II. Metodi	197
III. Condizioni determinanti la coniugazione nel <i>Colpoda Steini</i>	203
1. Influenza dello spessore della cultura	203
2. Influenza dei liquidi: scambi tra <i>Colpoda</i> e liquidi di varie culture	209
3. Influenza delle generazioni agame sulla produzione di coniugazioni	212
IV. Condizioni determinanti la coniugazione nel <i>Chilodon uncinatus</i>	214
V. <i>Opercularia coarctata</i> . Condizioni della coniugazione	216
1. Allevamento di questa specie	216
2. Coniugazioni tra parenti, dopo poche generazioni agame dalla coniugazione precedente	217
3. La divisione sessuale	217
4. Partenogenesi dei macrogameti	220
5. Alcuni raffronti	222
VI. <i>Opercularia coarctata</i> . I fenomeni minuti della coniugazione	223
1. Divisione comune e divisione sessuale	223
2. Individui neutri e macrogameti	225
3. Prima divisione, nel microgamete	228
4. Prima divisione di maturazione	228
5. Seconda divisione di maturazione	237
6. Ultima divisione, prima della fusione nucleare	239
7. Avvicinamento e fusione dei nuclei	241
8. Ulteriori divisioni e modificazioni, fino al ritorno alle condizioni normali	243
9. Il numero e la riduzione dei cromosomi	246

	pag.
10. Modificazioni dei vecchi macronuclei	247
11. Le coniugazioni osservate sul vivo	249
12. L'accordo degli stadi nei gameti. Precedenza del macrogamete	251
13. Variazioni della cromaticità nelle divisioni di maturazione	252
14. Omologie delle divisioni conducenti alla formazione dei pronuclei	253
VII. <i>Opercularia coarctata</i> . Orientazione dei nuclei nella coniugazione	257
1. Orientazione in generale	257
2. Misure degli angoli tra i fusi omosessuali	259
3. Ipotesi per spiegare le orientazioni dei fusi mitotici	264
VIII. Il differenziamento sessuale nella <i>Vorticella microstoma</i>	267
IX. Il differenziamento sessuale nel <i>Carchesium polypinum</i>	270
X. La degenerazione senile	272
XI. A che serve la fecondazione	281
XII. Conclusioni più importanti	287
XIII. Bibliografia	288
XIV. Spiegazione delle Tavole	293

I. Introduzione.

Lo studio delle condizioni d'ambiente capaci di indurre a coniugarsi gli Infusori, anche se discendenti prossimi di exconiuganti, anche se legati da vincoli stretti di parentela, è stato il punto di partenza di queste ricerche, colle quali volevo in certo modo portare una controprova a quanto affermai in precedenti pubblicazioni: dopo aver dimostrato sperimentalmente che la così detta degenerazione senile degli Infusori, si produce per condizioni esterne, batteriche — mentre non si produce anche per centinaia di generazioni agame, purchè le culture siano mantenute in condizioni quasi invariabili e buone, con un metodo scrupoloso — dopo ciò, la controprova che desideravo di fare — e che è riuscita — mi pare debba portare l'ultimo colpo alla teoria della degenerazione senile e della maturità sessuale prodotta da una serie lunga di generazioni agame.

Ma nel corso di queste ricerche, altri problemi si aprirono, ed ecco quali sono i principali:

1. Apparve l'influenza di una condizione non mai supposta prima, lo spessore verticale dello strato liquido della cultura, nella determinazione della coniugazione, per il *Colpoda Steini*.

2. L'esistenza di individui femminilmente differenziati, nei Vorticellidi che anatomicamente mostrano soltanto differenziati i microgameti; l'esistenza — di una „divisione sessuale“, colla

quale si produce da un individuo neutro, uno differenziato in senso maschile, l'altro in senso femminile.

3. A questo punto, la ricerca sperimentale si intrecciò talmente coll'osservazione minuta, citologica, dei fenomeni di coniugazione nell'*Opercularia coarctata*, che fui condotto a studiare in questa specie tali processi sistematicamente, nei più piccoli dettagli; ed a trattare di tutte quelle questioni annesse e connesse in cui sempre ci si imbatte, studiando i processi di cariocinesi e di coniugazione.

I risultati di indole più generale si trovano in ultimo, come conclusione; i risultati di indole più particolare, alla fine di ciascun argomento.

Queste ricerche son state eseguite in gran parte nell'Istituto zoologico dell'Università di Göttingen, ed al Prof. G. R. EHLERS, direttore dell'Istituto, ed al Prof. RHUMBLER, sento il dovere di esprimere qui tutta la mia gratitudine per la cordiale ospitalità ricevuta, e gli intelligenti consigli.

II. Metodi.

Negli studi biologici sui Protozoi, come è generalmente riconosciuto, la tecnica è quasi tutto; devo dunque spiegare in qual modo preparavo le mie culture, per quanto ciò differisce dai sistemi da me precedentemente adottati (ENRIQUES 1905).

Grandi culture. — In generale si descrive una cultura di Protozoi come qualche cosa che ha nn'esistenza solo temporanea, e deve essere spesso rifatta. A me premeva invece di avere, di ciascuna specie, culture che non deperissero, fossero sempre ricche, ed in condizioni poco mutevoli. Ciò non presenta difficoltà pratiche, una volta trovato il metodo. Il deperimento graduale delle culture deriva evidentemente dalle grandi modificazioni che il liquido subisce, per effetto delle specie coltivate, e degli altri organismi che gli servono di alimento, o che inevitabilmente vi si trovano insieme.

Per evitare queste modificazioni, si deve cambiare continuamente il liquido, senza aspettare che gli Infusori diano segni di depressione; non si deve prendere gli Infusori depressi e porli in buono ambiente a formare nuove culture, ma avere sempre una cultura, in cui gli Infusori restino, ed il liquido sia tolto ogni giorno. Così gli Infusori, sempre molti ed abbondantemente nutriti, ed in buone condizioni di salute, si trovano in uno stato d'equilibrio poco mutevole.

La tecnica di queste culture continuative, richiede naturalmente certi accorgimenti, che variano secondo la specie coltivata. Preparo di solito gli infusi nutritizi, facendo bollire del fieno nell'acqua potabile, e lasciando stare poi il liquido a sè per qualche giorno, in un recipiente originariamente sterilizzato, ma che non vien pulito ogni volta, ed in cui l'estratto è versato dopo raffreddamento; sì che i Batteri e piccoli Flagellati che in esso già si trovavano, servono a rendere presto la cultura ricca di questa microfauna e microflora. Ed ora, consideriamo di avere già una cultura ricca di Opercularie, ad esempio. Esse stanno in numero immenso alla superficie libera del liquido, poche al fondo. Con un sifone, tolgo la massima parte del liquido, cercando di evitare quanto è possibile di trascinar dietro gli Infusori, che sono alla superficie. Nel recipiente quasi svuotato, aggiungo il liquido alimentare, fino al livello primitivo. Tale operazione si ripete ogni due o tre giorni, o più spesso, se si vuole che le condizioni della culture siano fisse.

Una forma particolare di queste culture, che possiamo chiamare culture al massimo, si ottiene quando, insieme col liquido, la maggior parte degli Infusori si toglie pure via. Allora i rimanenti trovano maggiore quantità di alimento e proliferano attivamente, e sono al massimo grado di alimentazione. Tecnicamente non vi è nulla di più semplice: basta versar via la maggior parte del liquido, direttamente senza sifone, ed aggiungere nuovo infuso, facendo questa operazione tutti i giorni.

Naturalmente bisogna per ogni specie coltivata trovare il grado di concentrazione che più le si confà. Con questo intento, io faccio sempre gli estratti a caldo mediante una quantità approssimativamente uguale di fieno e di acqua. Cambio invece il rapporto tra questo infuso e l'acqua potabile bollita (senza fieno) che aggiungo o sostituisco nei vasi delle culture. Cambio anche la freschezza dell'infuso. Per le specie, come *Opercularia coarctata*, che tollerano un grande sviluppo batterico, è bene adoperare infusi preparati alcuni giorni avanti. In altri casi, massime per certe specie di Vorticellidi difficili a coltivare, la *Vorticella nebulifera* per esempio, si devono adoperare infusi più freschi. Son solito in questi casi adoperare un infuso che, dopo bollitura, è rimasto un solo giorno in riposo col suo fieno (in maniera da arricchirsi di sostanze disciolte), ma nel recipiente stesso in cui è stato bollito, od in altro in cui è stato messo caldo; in tal maniera lo sviluppo di Batteri è scarsissimo.

Con questi accorgimenti, i Chilodon, Colpoda, Vorticelle, Opercularie, Parameci ecc. ho mantenuto in condizioni poco mutevoli e

buone, per mesi e mesi. Di una specie, il *Carchesium polypinum*, non ho ottennto cultnre continnative, essendo solo riuscito a ritardare il deperimento di quelle culture che si formano natnralmente, con acqua ed erbacce pescate nei fossi. Certamente non è una difficoltà di principio che qui si oppone; è solo che questa specie ha condizioni di esistenza piuttosto ristrette, le quali non ho potuto fin qui esattamente determinare. Ma devo anche dire che gli ultimi perfezionamenti di questa tecnica, qnale sopra è descritta, non li ho potnti sperimentare sn questa specie, perchè non sono rincito a trovarla a Bologna, — dato che la lotta contro la malaria ha fatto spargere nelle acque stagnanti dei veleni, micidiali per le larve delle zanzare e per gli studiosi di Protozoi.

Piccole culture. — Per trasportare sotto il microscopio le piccole cultnre dove gli Infusori vengon posti in isolamento ed esperimento, ho adottato delle piccole camerette umide composte di due parti (Fig. 1 nel testo). La inferiore è formata di un vetrino portaoggetti contornato di una bacchetta di vetro, che vi è saldata con ceralacca; la parte superiore, di un coprioggetti ugualmente contornato, e capovolto sulla prima, dove è versata un poco d'acqua. La piccola cultura sta in goccia pendente, aderente al coprioggetti. Piccole avvertenze son necessarie: di coprire con paraffina la ceralacca, nella scodellina snperiore, per evitare che la goccia pendente si spanda sulla ceralacca medesima; sulla paraffina non si spande; di porre acqua distillata nella vaschetta di sotto, quando la goccia pendente è molto piccola; di spargere un minimo strato di albmina glicerinata (la miscela di MAYER per attaccare le sezioni microscopiche) sul vetro che fa da fondo, perchè l'acqua lo bagni bene fino ai bordi; ciò è importante perchè l'acqua non invada la cultura, quando si solleva il vetrino di sopra onde fare alla cultura stessa qualche operazione. Queste camerette, che si posson osservare per ore di seguito al microscopio, pur di non lasciar disseccare l'acqua esterna, permettono di conservare gocce addirittura minime, p. e. che abbiano nn diametro minore di mezzo mm., quando la temperatura della stanza è nelle varie ore della giornata assai costante; altrimenti le gocce devon essere un poco più grandi. Una grande camera umida, capace di contenere molte di queste camerette, serve per conservarle giorni o mesi se occorre. L'osservazione con obbiettivi ad immersione riesce molto comoda, perchè si può facilmente togliere l'olio di cedro rimasto sulla cameretta, senza minimamente danneggiare la piccola cultura.

Qualche volta ho adoperato per fondo un vetrino da orologio poco curvo ed a fondo piano (Fig. 1 del testo) o, per scopi speciali, ho posto nn vetrino coprioggetti sopra uno da orologio, pieno di liquido di cultura tanto da bagnare la faccia inferiore, ma non la superiore del coprioggetti. Questo metodo serve per fare attaccare molte Vorticelle ad un vetrino; ed uno analogo consiste nel porre alenni coprioggetti a galla, in nn liquido di cultura di questi Infusori; dopo un giorno, dopo due o tre al più, si trovano numerosissime

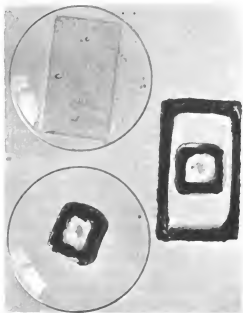


Fig 1.

Vorticelle attaccate alla faccia inferiore del vetrino, ciò che è comodo per fare i preparati. Colle Opercularie riesce invece meglio un altro sistema: mettere un vetrino coprioggetti al fondo di una base da cameretta umida, che serve questa volta da sola; versarvi la cultura di Opercularie, queste si attaccano numerose al vetrino che è in fondo, mentre, come sopra abbiamo avvertito, nelle grandi culture esse stanno più volentieri alla superficie superiore.

Anche nella tecnica per la confezione dei preparati microscopici ho da indicare alcuni metodi particolari.

Per far sezioni di Infusori che non siano in straordinaria abbondanza nella cultura, o di cui si voglia avere un numero grandissimo nei preparati, c'è sempre il problema di non perderne troppi durante le varie manipolazioni. A questo scopo ho spesso adoprato con buon esito una scatoletta di carta da filtro o di carta da scrivere, molto piccola (6—8 mm. di lato), il cui fondo è reso ben piano coll'attaccarvi di sotto un vetrino coprioggetti. Perché la scatoletta non si apra nelle varie operazioni, passo uno spillo fino attraverso di essa, in alto, e precisamente attraverso a quelle due facce opposte dove si trovano le rivoltature della carta. Posto il tutto in una vaschetta di vetro a fondo piano, porto dentro la scatoletta gli Infusori, il cui numero può venire aumentato lasciando che un poco di liquido filtri attraverso la carta, e riempiendo sempre la scatoletta. Dopo ciò, aggiungo il fissativo, lascio parzialmente filtrare, aggiungo nella scatoletta il liquido che dopo il fissativo deve sostituirlo, mentre al di fuori di essa vuoto sempre la vaschetta di vetro, mediante una pipetta. Così si possono successivamente cambiare tutti i liquidi, pur di non lasciare mai completamente vuota la scatoletta di carta, e si perdono pochissimi Infusori; si può sostituire anche più volte la paraffina, mediante una pipetta scaldata, oppure si aggiunge paraffina solida dentro al toluolo e si lascia che questo evapori. Per raffreddare la paraffina, si porta la scatoletta di carta nell'acqua, e poi si toglie vetrino e carta, e rimane un blocchetto pronto ad esser sezionato, e con molti Infusori al fondo.

Come fissativo ho adoperato per lo più il sublimato in soluzione satura acquosa, con un po' d'acido acetico, ed a caldo. Come coloranti, o l'ematossilina ferrica secondo HEIDENHAIN (sola o seguita da una lieve colorazione alla fucsina) oppure una doppia colorazione al carmino boracico e verde metile, che mi ha dato risultati assai buoni sia nei preparati *in toto*, sia nelle sezioni, e assai strani confrontandoli con quelli dell'ematossilina ferrica. Questa colorazione al carmino e verde metile si può fare come segue. Prima si colora col carmino boracico, fino ad un rosa debole, poi si lava in alcool non acidulato. Se il carmino tinge molto, è bene allungarlo con alcool a 70 %. Poi si lascia nel verde metile (sciolto all'1 % nell'alcool a 70) fino a un bel colore verde, che nei lavaggi successivi, in alcool, va via per la maggior parte. I tempi non posso indicarli con precisione, giacché, ripetendo il metodo in laboratori differenti, mi è accaduto di trovare delle differenze enormi; se però le soluzioni sono molto attive, bastano 2—4' nel carmino boracico allungato con alcool a 70 a parti uguali, e 5—10' nel verde metile, seguito da

lavaggio abbondante; che deve essere invece rapidissimo certe volte che il verde metile colora poco. Forse ci influisce la purezza delle sostanze, od anche il fissativo adoperato.

I preparati *in toto* devono essere chiusi in glicerina, le sezioni in balsamo del Canada. Facendo preparati con questo metodo, ed altri con ematossilina ferrica, si hano nell' *Opercularia coarctata* degli strani contrasti; si tingono:

1. il micronucleo in riposo pochissimo nei preparati all'ematossilina — in verde o leggermente viola, col carmino boracico e verde metile.

2. Il citoplasma pochissimo o punto coll'ematossilina — in rosa coll' altro metodo.

3. I corpi interni del macronucleo, intensamente coll'ematossilina — in verde coll'altro metodo.

4. Il resto del macronucleo pochissimo coll'ematossilina — in rosa coll' altro metodo.

5. I cromosomi nella piastra equatoriale, intensamente coll'ematossilina — in verde coll'altro metodo.

Come si vede, due doppie colorazioni — in fondo anche il metodo dell'ematossilina ferrica è una doppia colorazione, perchè si ha il colore dell'ematossilina e quello del mordente, che può essere sostituito dal rosa o rosso, se si aggiunge il trattamento colla fucsina — due doppie colorazioni distinguono i corpi dell' *Opercularia*, ciascuna in due categorie, ma in modi assolutamente diversi.

Per fare i preparati *in toto*, di *Opercularia* od altri Vorticellidi, mi sono esclusivamente servito dei metodi di autoattaccamento al vetrino, descritti poco sopra, a proposito delle piccole culture. Desiderando di non aver fenomeni di compressione, interponevo dei capelli tra il porta ed il coprioggetti; ed il metodo dell'autoattaccamento, oltre il vantaggio della comodità delle manipolazioni, ha quello di permettere l'esistenza di un discreto intervallo tra i due vetrini — onde impossibilità di schiacciamento — ed insieme la possibilità dell'osservazione coi più forti obbiettivi ad immersione, giacchè gli Infusori son rimasti vicini al coprioggetti.

Fissare in estensione i Vorticellidi non era richiesto in modo speciale dalle mie ricerche; pure studiai un poco la questione, e potei accertarmi che il sublimato acetico riscaldato verso 80° fissa il peduncolo delle Vorticelle bene spesso in estensione; non tutti gli individui si trovano estesi, ma molti sì; il metodo di CERTES e BEAUCHAMP (04) non mi ha dato buoni risultati per il corpo dell' *Opercularia*.

III. Condizioni determinanti la coniugazione nel *Colpoda* Steini (Mps.).

1. Influenza dello spessore della cultura.

Questa specie, sviluppata in straordinaria abbondanza in un infuso di fieno, mi fornì delle coniugazioni, avendo posto alcune gocce nelle mie camerette umide, per produrre e provare quelle condizioni di digiuno in piccole culture, che, secondo il MAUPAS (89), R. HERTWIG ed altri, sono condizioni determinanti la coniugazione negli Infusori. Ciò accadde verso la metà di Gennaio 1906, e la reazione era così regolare, che una goccia pendente in una cameretta umida, oppure un preparato nso MAUPAS (88) (un portaoggetti ed un coprioggetti sovrapposto, ma tenutone discosto con un filo di vetro) contenevano sempre coniugazioni, anche in gran numero, dopo breve tempo. Riporto un esempio:

21. 1. 06. 3 vetrini nso MAUPAS, ed uno a goccia pendente son preparati coll' infuso ricco di *Colpoda*. — 22. 1. Epidemia di coniugazioni in tutti i vetrini. — 23.—26. 1. Seguitano le epidemie, ma tendono a diminuire di intensità. — 28. 1. Moltissime cisti, liberi pochi, piccoll, non coniugazioni. Dopo questo tempo le culture seguitano una vita stentata, ossia aumentano sempre le cisti, diminuiscono i *Colpoda* liberi. Il 26. 2. 06 si cessa l'esperimento.

Tale reazione così immediata che si produceva senza fallo mentre nella cultura madre, da cui erano tolte le gocce, non vi era nemmeno una coniugazione, mi fece dubitare che non si trattasse soltanto del digiuno, come causa determinante la coniugazione nei piccoli vetrini, ma che la piccolezza delle culture potesse avere una influenza come tale. Allora feci il seguente esperimento:

22. 1. 06. Sopra alcuni portaoggetti saldo con ceralacca delle bacchette di vetro, sì da avere degli scompartimenti delle seguenti grandezze: mm. 43×23 ; 23×21 ; $2,1 \times 4,5$; vi metto infuso con *Colpoda*, per una profondità, in tutti, di circa $\frac{1}{4}$ mm.; in un altro simile, largo pure 23×21 mm., metto infuso per una profondità di mm. 0,4, ed in uno un poco più piccolo, per una profondità di circa mm. 2,3; di più, preparo una delle solite camerette con goccia pendente. Il liquido, tolto dalla superficie della cultura madre, mescolato in un vetrino da orologio, è suddiviso in queste varie culture, in modo da avere per quanto è possibile una grande uniformità nelle sue proprietà, compresa la percentuale di Infusori ed alimento. Il 23. 1., molte coniugazioni dappertutto, tranne nel vetrino dove il liquido era profondo mm. 2,3; ve ne sono, in questo, solo poche, che si trovano a fatica. L'epidemia dura ancora nei giorni seguenti.

Da questo esperimento sorge subito il dubbio che l'elemento importante, che ha la maggiore influenza, sia la profondità dei recipienti. Allora il giorno seguente preparo le seguenti culture:

23.1. Scompartimento di mm. 21×23 , con un sottile strato di infuso; scompartimento piccolo, circa mm. $2,1 \times 4,5$, liquido per una profondità di mm. 1,9. — Il 24.1., trovai una ricca epidemia nel vetrino largo con infuso poco profondo, e nessuna coniugazione nel piccolo scompartimento.

Contemporaneamente il 23.1. preparai una cultura, versando l'infuso ricco di *Colpoda* in un coperchio di vetro circolare, di diametro circa di 67 mm., e per una profondità di circa 1,5 mm. — Il 24 nessuna coniugazione, il 25, epidemia. Alle $10\frac{1}{2}$ un po' di liquido di questo coperchio viene posto in un tubo verticale largo 6 mm., e per una profondità di 15 mm. Alle 16 nessuna coniugazione vi è più, mentre ancora vi è una ricca epidemia nel coperchio, ed in una goccia pendente in cameretta umida, pure trasportata dal coperchio, a ora $12\frac{1}{2}$, ed in un sottile strato a superficie scoperta, trasportato come sopra. Allora il liquido senza coniugazioni lo rimetto in superficie larga ed in sottile strato, versandolo in uno degli scompartimenti sopra citati, e nel tubo metto nuovo liquido dal coperchio, fino all'altezza di prima (mm. 15). Alle $17\frac{1}{2}$, il liquido rimesso nel tubetto contiene un numero straordinario di cisti, e poche coppie, i cui individui tendono ad incistidarsi. Rimesso il liquido in strato poco profondo, dopo mezz'ora non ci sono più le numerose cisti prima osservate, e si osservano invece già parecchie coppie in formazione. Nei giorni seguenti, poche coniugazioni negli strati sottili, e moltissime cisti, che vanno sempre aumentando. Il 29 provai a prendere di questo liquido ricco di cisti dal coperchio, metterlo in gocce pendenti ed in tubi sottili verticali ed orizzontali, aggiungendo anche infuso più ricco di alimento od acqua potabile; ma non riuscì a produrre nuovamente coniugazioni.

L'influenza dello strato alto come impedimento alla coniugazione, risulta da questo esperimento evidente. E giacchè, ripetendolo in vario modo, ebbi lo stesso risultato, rimane chiaramente spiegato perchè nella cultura madre non si formassero coniugazioni, che invece divenivano abbondantissime nelle piccole gocce, appena un giorno o due dopo la loro preparazione.

Sospettai anche, da questi esperimenti, che ponendo il liquido coi *Colpoda* entro tubetti, si potesse forse più brillantemente dimostrare la stessa cosa, secondochè i tubi fossero tenuti orizzontali o verticali. Ed in questo senso feci un numero grandissimo di esperimenti, prendendo dei tubetti di pochi cm. di lunghezza, chiusi ad un estremo, aperti all'altro, di diametro vario, e posti ora orizzontalmente ora verticalmente. Quando il diametro era di 4,5 mm, coniugazioni non si formavano nè nei tubi orizzontali nè nei tubi verticali. In quelli invece che avevano un diametro di 1—2 mm, o qualche cosa di più, si formavano epidemie di coniugazioni, da un giorno all'altro, se erano posti orizzontalmente; nemmeno una coniugazione era visibile in quelli tenuti verticalmente. L'osservazione positiva nel primo caso era facile a farsi, bastava versare su un vetrino una goccia del liquido contenuto nel tubetto; nel secondo caso, l'osservazione negativa richiedeva naturalmente

maggiori precauzioni. Osservavo tutto il liquido del tubetto, versandolo sopra un vetrino, ma diviso in piccole gocce; gocce tanto piccole, da potersi osservare con un obbiettivo debole in modo da acquistare la sicurezza assoluta che esse non contenessero nemmeno una coppia di coniuganti. L'esperimento divenne poi ancora più dimostrativo, modificandolo nel senso di adoperare un sol tubetto, messo successivamente in posizione orizzontale e verticale, per più volte, mutando la sua posizione una volta al giorno; ed il risultato fu nettissimo, cioè più volte di seguito in uno stesso tubetto mi riuscì di osservare la comparsa e la sparizione delle coniugazioni, secondo la posizione; naturalmente in nessun caso è possibile di prolungare molto l'esperimento, perchè dopo alcuni giorni ed in qualunque posizione sia tenuto il tubetto, l'epidemia diminuisce e cessa. I tubetti orizzontali — è necessario a questo proposito dare qualche schiarimento — non lasciavano scorrer via il liquido che contenevano, dato il loro diametro ristretto. Poteva sorgere il dubbio che il liquido, bagnaudo un poco la parete del vetro, si estendesse a formare uno strato sottilissimo, ove potesse essere l'origine delle coniugazioni. Ma anche questo pericolo potei eliminare completamente, cospargendo la parete interna del tubo di un sottile strato di paraffina; allora il tubetto, posto verticalmente od orizzontalmente, non mostrava all'occhio variazione alcuna nel menisco del liquido, il quale cercavo che fosse piano quanto era possibile; in ogni caso, era affatto evitata la possibilità che il liquido bagnasse la parete del tubo. Con questi piccoli perfezionamenti tecnici, l'esperimento, molte volte ripetuto, non variò affatto nel suo decorso.

Che un tubetto posto verticalmente permetta ai Colpoda di coniugarsi, è anche possibile, e ciò in due casi differenti: o che il liquido in esso contenuto non superi un' altezza di circa 2 mm. — e questo caso conferma senz' altro la solita regola, in quanto anche qui si tratta di uno strato verticalmente sottile — o che il tubetto sia un capillare molto sottile. Allora la cultura deperisce rapidamente, e presenta un decorso molto irregolare, mostrandosi coniugazioni talora in tubi verticali, talora in tubi orizzontali, talora non negli uni nè negli altri. Non è molto degno di nota il fatto che il tubo orizzontale sottilissimo, in cui palesemente i *Colpoda* vivono male, non sia sempre ricco di coniugazioni. Anche versando del sublimato corrosivo sopra ad una cultura si impedisce che in essa si formino coniugazioni, e così, senza andare all' esagerazione, tutte le volte che per una ragione o per un' altra una condizione nociva limita o interrompe la vitalità degli Infusori. Quanto all' altra

eccezione, ricordiamola per un momento, mettendola da parte per trattarla insieme con un altro caso analogo tra poco.

Con questi esperimenti non si rende ancora chiara la ragione per la quale i *Colpoda* si coniugano soltanto in strati sottili. Si è dimostrato questo fatto, ma non trovata la sua causa; differenti supposizioni si possono fare. Quando lo strato è grosso in senso verticale, può essere che la quantità di alimento che si raccoglie alla superficie libera dove vivono i *Colpoda*, sia maggiore che nel l'altro caso; insomma, le condizioni nutritizie potrebbero essere diverse nei due casi, se p. e. i Batteri si portassero più facilmente alla superficie libera quando essa è superiore (tubetto verticale) che quando essa è laterale (tubetto orizzontale). D' altra parte si potrebbe supporre che realmente la profondità della cultura abbia una diretta influenza sopra al *Colpoda*. Queste varie supposizioni mi condussero a fare un esperimento tale da scindere i vari elementi. Preparai delle cellette fatte nel seguente modo: su un vetrino portaoggetti sono saldate delle bacchette di vetro, in maniera da formare due lati opposti di un quadrato o di un rettangolo; sopra, è saldato un coprioggetti. Rimane così tra i due vetrini uno spazio che può esser riempito di liquido; e se il coprioggetti non è più grande di 2 cm. q. e la profondità dello spazio (ossia il diametro delle bacchette) è qualche cosa meno di 2 mm., il liquido non si versa in qualunque posizione sia messo il tutto, e siamo per l'appunto nelle condizioni buone per fare esperimenti col *Colpoda*; ponendo il vetrino orizzontalmente, lo strato di 2 mm. è tale da permettere loro la coniugazione; ponendo il vetrino verticalmente, la profondità del liquido in direzione verticale — circa 1 cm. $\frac{1}{2}$ — dovrebbe esser tale da impedire la coniugazione. Ma si può mettere il vetrino verticalmente in due modi diversi: o colle superfici libere del liquido orizzontali ed allora veramente il liquido cade; ma si può fare l'esperimento in condizioni poco variate, chiudendo un lato di più della celletta, e lasciandone libero uno solo, che sarebbe in questo caso quello superiore; — oppure si può mettere il vetrino colle superfici libere verticali, ed in questo caso possono essere veramente due libere, od una, a volontà. Nel caso della celletta aperta di sopra, siamo in condizioni che corrispondono a quelle del tubetto posto verticalmente, quanto nel caso della celletta posta orizzontalmente siamo in condizioni simili a quelle del tubetto orizzontale. Ma nell' ultimo caso, del vetrino verticale colle superfici libere laterali, siamo in condizioni nuove e molto significative per il nostro scopo; le superfici libere sono laterali, non superiori, sono laterali

1 $\frac{1}{2}$ cm., come lo sono nel caso in cui esso è di soli 2 mm. (vetrino orizzontale).

Molto incuriosito di sapere se in queste nuove condizioni i *Colpoda* si coniugassero o no, preparai parecchi vetrini, mettendoli in tutte le condizioni che ho accennato sopra, ed uno stesso cambiando successivamente di posizione nei tre versi indicati, e così via. Ebbene, gli esperimenti dettero un risultato, anche qui, sempre concorde: che le superfici libere siano orizzontali o verticali non ha nessuna influenza; soltanto la grossezza dello strato in direzione verticale ha importanza, ossia la coniugazione non si è mai prodotta nei vetrini posti verticalmente, comunque fossero girati, ed avessero uno oppure due lati liberi. Cito un solo esempio, per non fare ripetizioni inutili:

11.2.06. Una celletta con un vetrino di diametro di 1 cm., fissato da due lati opposti, con due bacchettine di 2 mm. di spessore, è posta orizzontalmente, coll' infuso ricco di *Colpoda*. È messo invece verticale un vetrino che porta tre cellette: una simile a quella di sopra, con i due lati liberi verticali. Una che differisce dalla precedente solo per le dimensioni del vetrino, che è lungo 2 cm. e largo mm. 8,5; in questo caso le superfici libere non sono variate sensibilmente, ma soltanto la quantità del liquido, che è aumentata. Infine, una terza celletta ha solo il lato superiore aperto, pur essendo delle stesse dimensioni della prima. Queste tre cellette si riempiono collo stesso liquido di cultura del vetrino orizzontale.

12.2. Nel vetrino orizzontale, coniugazioni, epidemia forte; in quello verticale nessuna, in nessuna celletta. L'osservazione si fa a lungo, per esame diretto dei vetrini al microscopio. A ore 12 si rovesciano i due vetrini, cioè si mette il primo verticale (superfici libere verticali, ossia laterali), e il secondo orizzontale. Dopo tre ore ci sono ancora coniugazioni nel primo vetrino, e si vedono incominciare anche nel secondo.

13.2. Nel primo vetrino non c'è nessuna coniugazione; nel secondo ve ne sono molte numerose in tutte e tre le cellette. Nei giorni seguenti tutte queste piccole culture vanno lentamente deperendo.

Quando adoperavo cellette molto sottili, con uno strato liquido di una frazione di mm., allora le coniugazioni si formavano tanto in posizione orizzontale che in posizione verticale, esperimento questo che corrisponde a quello dei tubicini verticali capillari, nei quali ho talora osservato coniugazioni.

Facile è raccogliere i risultati di questi esperimenti in un unico enunciato: in tutti, i *Colpoda* si sono coniugati solamente quando lo strato liquido in direzione verticale era sottile, esclusi i tubetti e le cellette capillari. Ciò va d'accordo colle osservazioni degli altri autori, i quali non hanno conosciuto la coniugazione di questo Infusorio, giacché generalmente

nel caso in cui lo strato liquido in direzione verticale è di circa si fanno culture assai più in grande. E nelle mie culture madri, nelle quali lo strato era profondo almeno qualche centimetro, non ho mai osservato coniugazioni.

L'ultimo esperimento, delle cellette, non lascia campo a supporre che modificazioni delle condizioni alimentari possano essere causa del formarsi o no delle coniugazioni. Non saprei affatto immaginare come esse possano prodursi in una celletta la quale da orizzontale vien posta verticale, sempre conservando i suoi due lati aperti laterali. Mi sembra che la influenza più probabile sia quella diretta, dello spessore dello strato; quando esso è piccolo, gli Infusori, impacciati nei loro movimenti, si coniugano. Questo modo di considerare le cose spiega anche l'eccezione, dei tubetti e cellette capillari, giacchè in questo caso anche i movimenti verticali dei *Colpoda* — verticali, certamente non in senso esatto, geometrico! — devono venire impacciati, nonostante che lo strato in direzione verticale sia grosso.

Quanto al significato di questa reazione, rispetto alle abituali condizioni di vita dei *Colpoda*, si possono anche trarre delle conseguenze. Abbiamo visto, che l'epidemia di coniugazioni è preceduta da ancistidamento dei grossi individui; appena messe le culture in strato sottile, dopo poche ore, tutti i più grossi individui sono o in via di incistidarsi, o incistidati. Si tratta, esclusivamente di cisti di divisione, le quali, come è noto (RUMBLEY 88) sono ben differenti dalle cisti conservative, e costituiscono in questa specie l'unico modo di scissione. Viene dunque in mente l'idea di considerare questi più grossi individui come quelli che producono, coi loro discendenti, l'epidemia di coniugazioni; però essi non sono indispensabili; anche da culture che non contengono questi individui di straordinaria grossezza — il polimorfismo del *Colpoda Steini* è ben noto — si possono avere coniugazioni; ma in numero ben limitato; onde a questi si deve almeno attribuire la parte principale nella produzione della epidemia. Le divisioni osservate corrispondono perciò alle divisioni di digiuno osservate negli altri Infusori, ma anzichè esser prodotte dal digiuno — un abbondante nutrimento non impedisce la formazione dell'epidemia — son causate dallo spessore piccolo della cultura. Una volta formate le coniugazioni, una volta in via di terminare l'epidemia, il numero degli individui liberi nella cultura diminuisce progressivamente, aumentando invece le cisti, le cisti durature questa volta, oltre quelle di divisione; e ciò indipendentemente da ogni disseccamento. L'epidemia di coniugazioni seguita dall'incistidamento ci ricorda

quei Protozoi in cui la copulazione avviene sotto ciste; o siano i *Colpoda* uno stadio di avviamento verso questa condizione, o piuttosto da questa verso quella degli Infusori che si coniugano indipendentemente da ogni fenomeno di incistidamento, essi costituiscono in ogni modo un anello di congiungimento tra le due forme diverse di unione sessuale, rimaste fino ad ora — a quanto mi sembra — disgiunte da un salto.

Da un' altra parte possiamo anche considerare le particolari condizioni nelle quali l'epidemia si produce. Evidentemente il modo di reagire del *Colpoda*, non deve ritenersi abbia la sua ragion d'essere nella risposta a quelle particolari forme di culture, in cui gli Infusori sono stati posti negli esperimenti; bensì deve essere in accordo colle condizioni biologiche normali di questi Infusori. Ora, è evidente che in natura lo strato del liquido in cui vivono i *Colpoda* non è sempre sottile, ma soltanto quando si avvicina il momento del disseccamento; ed a questo segue per lo più una diffusione delle cisti in altri ambienti; dato ciò, che non è altro che una semplice constatazione di fatto, ne seguono due interessanti considerazioni. Se le coniugazioni — come discuteremo più avanti — hanno per effetto principale il mantenimento della fissità della specie, si capisce bene che esse si producano al momento in cui più facile è la separazione degli individui che prima erano vissuti insieme. D'altra parte, vediamo che qui si produce la coniugazione in condizioni perfettamente analoghe e quelle in cui si produce in un numero grandissimo di Protozoi e di altri organismi; se consideriamo p. e. i parassiti, in essi è fenomeno ordinario quello dell'intercalazione di generazioni sessuali, in mezzo a generazioni agame, quando da un' ospite passano in un altro. O reciprocamente, il che è lo stesso, per passare da un ospite ad un altro è necessaria la produzione di un germe fecondato. Tutto l'insieme di questi fatti ci conduce sempre più a ritenere la nostra specie come connessa coi Protozoi più semplici, assai più che non lo siano gli altri ciliati; si hanno in particolar modo dei punti di somiglianza colle Gregarine.

2. Influenza dei liquidi: scambi tra *Colpoda* e liquidi di varie culture.

Gli esperimenti sopra riferiti, la reazione dei *Colpoda*, per la quale essi si coniugano negli strati sottili, non avviene sempre; se le culture son capaci di dare coniugazioni, le danno solo nelle condizioni suddette; ma spesso non le danno in nessun modo; lo strato sottile

è cioè condizione necessaria, ma non sufficiente, ed ogni cultura non continuativa di *Colpoda Steini*, dopo un periodo in cui è capace di fornire coniugazioni, cessa di reagire agli strati sottili; in ciò dunque si comportano questi Infusori come gli altri, nei quali un' epidemia di coniugazioni è seguita dall' impossibilità, almeno finchè non si rinnova o varia la cultura, di nuove coniugazioni. Ma la differenza particolare, consistente nell' aggiunta di quella condizione necessaria che abbiamo studiato, getta viva luce sul perchè, dopo una epidemia, le coniugazioni cessino. Si poteva pensare che ciò dipendesse da che, gli Infusori essendosi coniugati, i discendenti, individui giovani, non maturi sessualmente, non possano più coniugarsi. Il *Colpoda* realizza di per sé un bell' esperimento di distinzione dei vari elementi causali: in esso infatti le coniugazioni non si formano in atto nella cultura grande, che invece questa attraversa un periodo nel quale può darle — se gli individui vengon messi in strato sottile — L' influenza delle coniugazioni avvenute, non si può far sentire nella cultura del *Colpoda*, come in quelle degli altri Infusori, giacchè nel nostro caso coniugazioni non sono avvenute nella cultura in questione, ma soltanto sappiamo della possibilità che esse avvengano, per gli esperimenti collaterali, fatti con piccole gocce tolte al vaso, ed ivi non rimesse. Eppure, dopo il periodo della possibilità di coniugarsi, questa possibilità cessa, nè più nè meno come dopo le coniugazioni avvenute, nelle culture degli altri Infusori. È evidente da ciò che negli Infusori in genere, non sono le coniugazioni avvenute, la causa per cui cessa l' epidemia coniugativa; bensì altre condizioni, che si devono svolgere nel liquido culturale, indipendentemente dal fatto delle coniugazioni.

A conferma di questo modo di vedere, pensai di fare il seguente esperimento: avendo due culture di *Colpoda Steini*, delle quali una reagisca, dando coniugazioni in strato sottile, e l'altra no, unire i *Colpoda* dell' una al liquido dell' altra, e viceversa, e vedere poi se ed in quale di queste unioni si formino coniugazioni. La realizzazione pratica di questo esperimento è piuttosto difficile, ma si riesce con qualche accorgimento a mettersi nelle condizioni volute, con grande approssimazione. Non è possibile trasportare da una cultura i soli *Colpoda*, senza un poco del loro liquido; ma se la cultura è molto ricca, si può ridurre questo liquido ad una quantità minima; basta prendere una minutissima gocciolina dalla superficie superiore della cultura, col polpastrello del dito; osservando al microscopio il resul-

tato del tentativo eseguito, spesso si trova per così dire una massa di organismi viventi, addossati talmente, da formare quasi un corpo solo. Per prendere invece il liquido senza gli Infusori, si immerge una pipetta nella cultura, qualche cm sotto la superficie superiore, e si aspira lentamente, senza scuotere affatto; la cultura stessa, sarebbe inutile dirlo, non doveva esser mossa almeno da qualche ora. Il liquido raccolto contiene pochi o punti *Colpoda*; si divide in minute goccioline sopra ad un vetrino, e si scartano, esaminandole al microscopio, tutte quelle che contengono *Colpoda* o sue cisti. Si riesce così con un poco di pazienza a mettere insieme una certa quantità di liquido senza *Colpoda*, ricco invece di Batteri, un liquido che non corrisponde proprio esattamente a quello in cui si trovano i *Colpoda* nella cultura, ma che gli assomiglia; le sostanze disciolte sono probabilmente le stesse, ed approssimativamente in uguale proporzione; la differenza maggiore dipende dal fatto che alla superficie, dove vivono i *Colpoda*, si trovano Batteri e Flagellati in maggior quantità che nello strato sottostante da cui il liquido è stato preso. Ma, come vedremo, questa differenza, che non saprei davvero come meglio evitare, non impedirà la riuscita dell' esperimento.

Comincio col riferire uno degli esperimenti, come esempio:

8.2.06. Ho 4 culture di *Colpoda* di cui, per le prove fatte negli ultimi giorni scorsi, una reagisce dando coniugazioni (cultura A), le altre no (culture B, C, D). Preparo una coppia di tubetti (uno orizzontale ed uno verticale), con ciascuna delle culture B, C, D, e 5 coppie colla cultura A.

Il 9.2., c'è epidemia di coniugazioni nei 5 tubetti orizzontali di A., nemmeno una in tutti gli altri. I tubetti di B non han dato mai coniugazioni, nemmeno nei giorni seguenti, quelli di C e di D (orizzontali!) ne hanno date alcune, rispettivamente il 14 e il 16 del mese; ciò non potevo prevederlo il 10, ma per l'appunto scelsi per l'esperimento che segue, la cultura B, che non reagì affatto.

Il 10.2., prendo da un tubetto della cultura A, orizzontale e ricco di coniugazioni, una certa quantità di liquido senza *Colpoda*, e ne pongo due gocce rispettivamente in due vetrini da cameretta umida. In una delle gocce aggiungo *Colpoda* dalla cultura A, nell'altra dalla cultura B (che non dà coniugazioni). Faccio poi l'inverso, prendendo i *Colpoda* dal tubetto orizzontale di A, e mettendoli in una goccia del tubetto orizzontale di B; per riprova, in un'altra goccia pongo *Colpoda* e liquido B. Ho ottenuto coniugazioni, il giorno seguente, in tutte le gocce, tranne nell'ultima. Ossia, la cultura che non dava di per sé coniugazioni, non le ha date veramente, nemmeno in questa prova di confronto. Quella che le dava, ha seguitato a darle, anche prendendo il liquido ed i *Colpoda* con quella tecnica speciale, adoperata per fare le mescolanze di culture diverse. I *Colpoda* della cultura che reagiva si sono coniugati anche nel liquido della cultura cattiva; e quelli della cultura cattiva — e che non si sono coniugati nel proprio liquido, si sono invece coniugati nel liquido della cultura buona.

Lo stesso esperimento feci due giorni dopo, colle stesse culture e con molti vetrini. Questa volta il risultato fu diverso nella mescolanza dei *Colpoda* della cultura buona, mescolati col liquido della cultura cattiva: mancarono anche qui le coniugazioni.

Esperimenti analoghi li feci ponendo le solite 4 mescolanze in altrettanti tubetti orizzontali; liquidi e *Colpoda* son tolti direttamente dalle culture madri. Ho trovato coniugazioni nei tubetti con liquido della cultura buona, e *Colpoda* dell' una o dell' altra; non ne ho trovate in quelli del liquido cattivo, più *Colpoda* della stessa o dell' altra cultura.

Riassumendo questi ed altri numerosi esperimenti similmente condotti, posso concludere che il liquido di una cultura che dà coniugazioni, è capace di indurre a coniugarsi i *Colpoda* di una che di per sé non ne dà; viceversa, i *Colpoda* di una cultura che dà coniugazioni, non si coniugano più quando vengon messi nel liquido di una cultura che non ne dà. Ambedue questi fenomeni si producono molto spesso, ma non sempre; ciò però evidentemente non toglie il loro valore; l'influenza del liquido ambiente nella produzione delle coniugazioni ne risulta direttamente dimostrata. Devo anche dire che le eccezioni riguardanti il caso dell' unione di *Colpoda* di cultura buona con liquido di cultura cattiva, si sono verificate quando per l'appunto avevo osservato che i *Colpoda* non erano tanto privi di liquido come di consueto; e che la mancanza delle coniugazioni nelle mescolanze di *Colpoda* della cultura cattiva con liquido di quella buona, ben si può spiegare con il fatto accennato sopra, che il liquido raccolto in uno strato un poco profondo, non è esattamente lo stesso di quello raccolto direttamente alla superficie della cultura.

Ecco dunque che, come ci proponevamo, con questi risultati veniamo a mettere in più chiara luce il fatto che una cultura lasciata a sé, prima non dà coniugazioni, poi traversa un periodo in cui è capace di darle, poi di nuovo cessa di darle. Ciò non dipende da misteriose condizioni svolgentesi negli Infusori, ma le modificazioni del liquido ambiente giuocano la prima parte nelle differenze osservate.

3. Influenza delle generazioni agame sulla produzione di coniugazioni.

Un altro punto abbiamo anche trattato per il *Colpoda*, secondo il programma propostoci, cioè la formazione di coniugazioni

dopo poche generazioni agame da alcuni exconjuganti. Isolando delle coppie di *Colpoda* in piccole culture, non sempre si riesce ad avere in esse presto delle coniugazioni, data la gran tendenza alla produzione di cisti durature. Ma gli insuccessi non tolgono valore ai casi positivi, in cui l'esperimento è riuscito. Cito qualche esempio.

5 coppie isolate e riunite in una goccia, hanno dato origine a circa 50 individui dopo 5 giorni, avendo ricevuto per alimento un buon infuso di fieno; a questo punto se ne lasciano nella goccia 12, che nei giorni seguenti non formano coniugazioni, tendendo invece all'incistamento; degli altri se ne mettono alcuni in tre gocce, e precisamente 14 in una, 4 e 3 nelle altre due; in tutte e tre si trasportano i *Colpoda* con pochissimo del loro liquido, allungando con acqua potabile. Il giorno seguente, le due gocce con 4 e 3 sono andate in malora, per cause estranee all'esperimento, in quella che aveva 14 *Colpoda* ce ne sono circa 30, ed alcune coniugazioni non contenute. È difficile che questi individui si trovassero più che alla sesta generazione, a partire dalle coppie che erano state isolate.

Un'altra volta ottenni coniugazioni tra 100—150 individui derivanti da 1 sola coppia dopo 8 giorni, ed avendo dato per alimento nell'ultimo giorno il liquido di una cultura che dava coniugazioni in strati sottili. Qui si era circa all'8ª generazione.

È interessante notare come le coniugazioni si siano ottenute appunto facendo agire sulle piccole culture quelle condizioni di ambiente che sono in generale atte a produrle; rimane insomma dimostrato che, pur di avere determinate condizioni esterne, i *Colpoda* possono coniugarsi dopo pochissime generazioni dalle coniugazioni precedenti.

Con questi esperimenti, altrettanto difficili e lunghi a condursi ad effetto, quanto facili e brevi a raccontarsi, ho terminato di riferire le principali ricerche che ho fatto con questa specie.

Si spiega dunque per essa quale influenza abbiano le piccole culture, al confronto delle grandi, ed indipendentemente dalla maggior rapidità con cui gli Infusori finiscano il cibo che è a loro disposizione.

CLARA HAMBURGER dice che BÜTSCHLI (76) e МАУРАS (89), ed essa stessa hanno osservato l'influenza delle piccole culture, ma non ne dà spiegazione; anzi si meraviglia che in condizioni apparentemente uguali le cose vadano diversamente. Forse le ricerche future metteranno in evidenza sempre nuovi elementi causali e determinanti della coniugazione, condizioni che si possono svolgere nei piccoli ambienti più presto che nei grandi. Veramente il МАУРАS dice ripetutamente che la più rapida scarsenza del cibo che in esse si

produce debba essere la causa della differenza. Ma non è probabilmente la sola; dei *Parameci* che si trovino in una grande cultura di cui non venga rinnovato il liquido, si moltiplicano con tanta rapidità, che in pochi giorni il loro numero, rispetto al volume od alla superficie del liquido diventa straordinario, anche molto maggiore che non in un esperimento in piccola cultura che venga preparato per ottenere coniugazioni; eppure nel caso della cultura grande esse non vengon affatto, o si fanno attendere molto più che nella piccola. Invano però ho fino ad ora tentato esperimenti con questa specie per cercare di scindere nei suoi elementi la diversità di condizioni nelle diverse culture. La relativa rarità di successo nell'ottenere con essa coniugazioni mi ha impedito di trarre delle conclusioni.

IV. Condizioni determinanti la coniugazione nel *Chilodon uncinatus* (EHRBG).

Questo genere offre, come è noto, una particolare difficoltà nei trasporti degli individui da un vetrino ad un altro, massime delle coppie in coniugazione, perchè quando si applica la pipetta per trarli su con un poco di liquido, essi aderiscono invece fortemente al vetro. Non però che sia impossibile il vincere tale difficoltà; bisogna osservare attentamente al microscopio la posizione dell'individuo che si vuole aspirare, e poi avvicinare la pipetta rapidamente, con mossa sicura e decisa, andando proprio sopra all'individuo stesso; allora per lo più esso viene su; altrimenti si può ritentare la prova, dopo però avere atteso qualche istante, perchè esso si sia rimesso in moto.

Per gli esperimenti che ho fatto con questa specie ho adoperato esclusivamente una cultura continuativa, derivata da un individuo isolato l'1.2.06. — La cultura divenne presto ricca, grazie al buon nutrimento, che però non era tale da far moltiplicare i *Chilodon* in numero straordinario. Allora l'1.3.06 sostituii un infuso più ricco del solito, anzi ricchissimo di Batteri, ed il 2 notai un aumento grande del numero dei *Chilodon*, ed un gran numero di divisioni. Il 3 l'aumento è più notevole, e si trovano coniugazioni. Anche il 19 sostituii un infuso ricchissimo, ed osservai già il 20 una coniugazione, il 21 molte. Quando veniva sostituito un infuso non molto ricco di alimento, non si palesava tale intensa reazione. Essa era apparentemente dovuta all'aumento dell'alimentazione, ma in

realtà alla diminuzione che ne seguiva. Infatti, prendendo una piccola quantità di *Chilodon*, e mettendoli in una discreta quantità di quello stesso infuso ricchissimo che causava le coniugazioni nella cultura originaria, gli Infusori si moltiplicarono rapidamente, con molte forme di divisione visibili, ma senza coniugarsi per molti giorni. Vuol dire che in quelle culture già ricche di *Chilodon*, nelle quali si aumenta notevolmente il mangiare, l'aumento rapido degli Infusori, che ne consegue, stabilisce tosto la formazione di condizioni opposte, di scarsa alimentazione.

Culture in piccoli vetrini danno facilmente coniugazioni con questa specie, togliendo gli individui da una cultura ben nutrita. E da notarsi però che coniugazioni sporadiche si possono trovare anche in vasi che contengono liquido poverissimo di alimento, ove i *Chilodon* vivono stentatamente da mesi.

Gli esperimenti che ho fatto, sistematicamente, sono i seguenti:

1. Tentativi di produzione di coniugazioni tra parenti molto prossimi; essi sono riusciti, partendo da un individuo isolato in una goccia, avendo io potuto osservare più di una volta coniugazioni quando i discendenti non erano più di 64. La cosa è difficile, e gli esperimenti con esito positivo li feci circa un paio d'anni fa, mentre in alcuni più recenti, fatti colla cultura continuativa di cui sopra è detto, non riuscii ad avere un'epidemia altrettanto sollecita.

2. Tentativi di produzioni di coniugazioni con discendenti prossimi di exconiuganti. Anche questi non riescono sempre, essendo difficile di produrre rapidamente ed in piccolo le condizioni volute. Il caso migliore è quello di una cultura derivata da 3 exconiuganti, riuniti in una piccola goccia; ebbi coniugazioni dopo 6 giorni, quando gli individui erano circa 96, ossia tra la 5^a e la 6^a generazione. Altra volta ebbi coniugazioni da una coppia che aveva dato luogo a poco più di 100 individui (7^a—8^a generazione); gli altri esperimenti hanno avuto un risultato sempre meno rapido.

Anche qui dunque, come nel *Colpoda Steini*, si possono ottenere coniugazioni, senza che una lunga serie di generazioni agame sia trascorsa dalla coniugazione precedente.

V. Opercularia coarctata. Condizioni della coniugazione.

1. Allevamento di questa specie.

Anche con questa specie ho fatto gli esperimenti traendo tutti gli individui da una cultura continuativa, derivata da un individuo isolato il 6. 2. 06. La cultura ha avuto vita rigogliosa durante le principali ricerche qui riferite, ed anche dopo, soltanto due volte per pochi giorni la ridussi ad un piccolo vasetto con cibo non mutato, essendo io in viaggio. Questo piccolo Vorticellide è prezioso per la ricerca, data la sua grande resistenza; resiste senza difficoltà al disseccamento anche rapido, ma, quello che più conta, quando si trasporta un individuo da un liquido ad un altro, esso non muore; nelle piccole culture, che danno sempre colle altre specie una percentuale di insuccessi all'atto di formarle, con questa specie ben possiamo dire che non esistono insuccessi. Non ricordo di averne mai avuti, nè ne trovo segnati nei miei appunti. Ciò non è dovuto a cure più speciali che avessi coll'Opercularia, anzi talora per prova trasportai espressamente alcuni individui da un liquido ad un altro assai diverso, ed essi rimasero sempre in vita.

Lasciando la cultura senza sostituire il liquido per qualche giorno, in modo che più facilmente si formi alla superficie un ricco strato di Infusori, e poi sostituendo un infuso ricco di Batteri e piccoli Flagellati, talvolta sorgono epidemie di coniugazioni già il giorno seguente, e per più volte di seguito si possono avere delle abbondanti epidemie, con tale pronta reazione, che parrebbe quasi inverosimile esse si debbano al digiuno anzichè alla ricca alimentazione. Ma anche qui l'esperimento decide la cosa nel senso del digiuno, e molto nettamente. In primo luogo, si può assai bene osservare che dopo poche ore dall'aggiunta di nuovo cibo, le Opercularie sono ingrassate, ed invece il giorno seguente, se vi sono coniugazioni, sono anche più magre; ma meglio risponde l'esperimento. Quando le Opercularie sono grasse, dopo poche ore dall'aggiunta dell'infuso alimentare, prendo una piccola quantità del liquido di cultura, e lo diluisco con molta acqua potabile. Un'altra dose circa uguale la diluisco con lo stesso infuso alimentare. Allora succede che il giorno seguente le Opercularie dell'acqua potabile sono magre, e tra esse si trovano molti microgameti e coniugazioni; mentre invece quelle che son state poste in scarso numero entro gran quantità di infuso alimentare, sono grasse e senza coniugazioni; queste cominciano soltanto dopo alcuni giorni, quando anche in questo vaso le Opercularie sono dimagrate e divenute moltissime e fitte.

2. Coniugazioni tra parenti, dopo poche generazioni agame dalla coniugazione precedente.

I primi esperimenti che intrapresi a fare colle Opercularie, avevano il solito scopo, di produrre coniugazioni dopo una corta serie di divisioni, partendo da exconiuganti. Per questo scopo procedei all' isolamento di coniugazioni; così da una isolata il 26. 2, il 4. 3. si hanno 71 individui, e parecchi microgameti che corrono; due giorni dopo la cultura non è più rigogliosa, ossia le Opercularie smagrite sono in uno stato di inattività ben riconoscibile, e caratteristico del digiuno; allora aggiungo un poco di infuso alimentare, ed esse, dopo essere rapidamente ingrassate, il 7. 2. contengono microgameti e coniugazioni. Una di queste, di nuovo isolata, dà luogo ad un' altra piccola cultura dove il 16. 2. tra circa 120 individui, sono di nuovo microgameti e coniugazioni, dopo 7—8 generazioni dalla coniugazione precedente. È da notarsi che questi individui che si coniugano nelle piccole culture, sono anche tra loro stretti parenti, derivando tutti da un' unica coniugazione.

3. La divisione sessuale.

Stavo facendo nuovi esperimenti di questo genere, di cui alcuni erano già riusciti con buon esito, quando, per procurarmi più facilmente delle coniugazioni — non sempre facili ad isolarsi anche se ce ne sono parecchie, — pensai di riunire in una piccola goccia una *Opercularia* qualunque, presa dalla cultura, con due o tre microgameti. Però, con mia grande sorpresa, sebbene ripetessi la prova più volte, non ebbi nessun risultato positivo; cosicchè, mentre abbandonai senz' altro la cosa, come mezzo per avere coniugazioni, cominciai a cercare di chiarire il fenomeno di questa fecondazione artificiale non riuscita. Dopo alcuni giorni, osservando attentamente le culture che erano ricchissime di coniugazioni, potei scorgere alcune formazioni molto caratteristiche, che mi misero sulla strada dell' esperimento.

Come è noto, nell' *Opercularia* si formano i microgameti da una divisione ineguale, che dà origine a 2 individui di diversa dimensione; il più piccolo si divide in due microgameti, che presto si staccano; qualche volta — io lo ho osservato rarissimamente — si divide ancora, si da produrre 4 microgameti anziché 2.

Due Opercularie, una grande normalmente ed una piccola — padre dei microgameti — si trovano spesso attaccate tra loro, ed isolate da ogni altra cosa, nel liquido delle culture; o, in stadio poco

più avanzato, una *Opercularia* di apparenza normale, con i 2 microgameti che ancora non si sono staccati, o con uno solo, essendo già distaccato l'altro. Mi capitò di vedere una *Opercularia* in coniugazione, la quale aveva ancora uno o tutti e due i suoi microgameti attaccati; e queste curiose formazioni trovai ripetutamente. Allora pensai che ciò non fosse un caso, ma che appunto fossero destinate alla coniugazione, come macrogameti, quelle *Opercularie* che eran sorelle dei microgameti. Sottoposi la cosa ad esperimento, nel modo seguente:

Andai in cerca di individui che avessero attaccati i microgameti, in stadi più o meno avanzati di formazione, ciò poco importava; e ne isolai parecchi, ciascuno in una goccia, osservando poi cosa avveniva, continuamente sotto il microscopio. Seguì la formazione ed il distacco dei microgameti, ed osservai, come fenomeno costante, che uno dei due microgameti si coniugava subito coll' *Opercularia* sua zia. Anzi, spesso accadeva che uno non fosse ancora distaccato, mentre l'altro era già in coniugazione; e mi accadde perfino di osservare che tutti e due i microgameti si attaccassero all' *Opercularia*, conducendo avanti la coniugazione, in quella forma anormale corrispondente alla polispermia, che si osserva non di rado nei Vorticellidi. Di fronte a questo fenomeno costante, ripetuto in moltissimi esperimenti, sta l'altro pure costante della mancata coniugazione, nuendo microgameti ed *Opercularie* prese a caso nel liquido. Combinai anche le due cose: un' *Opercularia* con due microgameti non ancora staccati è unita, in una piccola goccia, con un'altra *Opercularia* qualunque; si staccano i microgameti, uno entra in coniugazione colla zia, l'altro seguita a correre per la goccia, restando qualche ora indifferente di fronte alla *Opercularia* straniera. Un'altra *Opercularia* con due microgameti, dà luogo allo stesso fenomeno, di coniugazione, mentre uno dei due microgameti resta a spasso; allora prendo i due microgameti avanzati da questi due esperimenti, e li unisco con una nuova *Opercularia*, presa dalla cultura; non avviene coniugazione. Altre volte uui parecchie *Opercularie* con parecchi microgameti, sempre senza poter avere coniugazioni. Naturalmente potei produrre senza difficoltà alcuna la coniugazione tra *Opercularie* che avevano a fianco i microgameti, ed altri microgameti estranei, non loro parenti.

Questi esperimenti sono affatto sicuri; nel corso di un anno li ho ripetuti ogni tanto, sempre collo stesso risultato. È evidente che, se nel pescare una *Opercularia* dalla cultura, si prendesse per l'appunto una che avesse avuto a lato i microgameti, ormai distaccati, allora si dovrebbe produrre la coniugazione; ma questo caso non si

verifica in pratica, sia perchè le Opercularie con microgameti rappresentano anche nei migliori casi, di forte epidemia, una percentuale assai piccola tra le altre, sia perchè quelle che hanno formato microgameti si coniugano subito, prima che questi siano distaccati, essendoci nel liquido dove si svolge l'epidemia numerosi microgameti che girano. Osservo incidentalmente che questo fenomeno ricorda il caso di fiori ed animali ermafroditi, in cui o per una disposizione anatomica, oppure per la maturazione in tempi successivi delle cellule germinali dei due sessi, è impedita o resa quanto mai improbabile la fecondazione tra i germi dello stesso individuo. Qui, nelle Opercularie, tale fatto non è impedito assolutamente, tanto che si può produrre negli esperimenti di isolamento, ma reso poco probabile, nella vita ordinaria della specie.

Vi è dunque una divisione, che possiamo chiamare „sessuale“, per la quale da un individuo nentro — incapace di coniugazione — si forma contemporaneamente un maschio (che si riduce in due microgameti) ed una femmina.

Un fatto di tal genere era stato intraveduto da ENGELMANN nell' *Epistylis*, ma non da altri raccolto, nè da lui dimostrato; egli aveva osservato che nelle grandi colonie di *Epistylis*, le coniugazioni ed i microgameti si formano non in tutta la colonia contemporaneamente, ma prima da un lato; e dallo stesso lato si trovano contemporaneamente le une e gli altri. Queste osservazioni però non dimostrano nulla, perchè la differenza tra un lato e l'altro è manifesta di per sé, dato che in uno solo si formino i microgameti; e dipenderà evidentemente dalle diverse condizioni di alimentazione. Ora, sarebbe molto strano che fossero differenti le condizioni capaci di produrre microgameti, da quelle che ne permettono l'unione coi macrogameti; chè se tali condizioni determinanti debbano essere le stesse, allora è evidente che dallo stesso lato ove si formano microgameti, si debbano trovare anche le coniugazioni e reciprocamente; l'osservazione di ENGELMANN toglie la possibilità che in *Epistylis* vi siano grossi rami differenziati in sesso maschile e femminile, in toto, ma non implica nulla sulla natura particolare e sulla particolare origine di quei determinati individui che entrano in coniugazione. — Più notevole è l'altra osservazione, che le coniugazioni avvengano in individui che già hanno eliminato microgameti. Ma come si può avere tale certezza? Forse non è possibile che si distaccino dalla colonia altri individui, a cui attribuire i posti vuoti? E come

riconoscere in ogni caso nella grossa colonia, che l'individuo in coniugazione abbia accanto i rametti vuoti dei microgameti distaccati da lui? Infatti, ENGELMANN stesso esprime il dubbio che il fenomeno non sia costante, ed il BÜTSCHLI, nel dire della coniugazione dei Vorticellidi (Protozoa pag. 1628) nega che sia dimostrato che fungano da macrogameti speciali individui, tranne nel caso di quelle specie che li hanno morfologicamente riconoscibili; però, aggiunge, sembra che nell' *Epistylis* la coniugazione avvenga sempre o solo preferibilmente con quegli individui ecc.:

„Als Makrogonidien funktionieren bei allen Gattungen mit Ausnahme von *Zoothamnium* die gewöhnlichen Individuen. Wenigstens ergaben die seitherigen Beobachtungen keine Anzeichen, daß nur bestimmte Individuen normaler Größe hierzu dienen. Dennoch weisen ENGELMANN'S Untersuchungen (1876) vielleicht auf etwas derartiges hin. Bei *Epistylis plicatilis* konstatierte er nämlich, daß die Mikrogonidien sich immer oder doch vorzugsweise mit solchen Individuen (Makrogonidien) vereinigten, deren Schwestersprößling durch Teilung in Mikrogonidien zerfallen war.“

Il BÜTSCHLI stesso, che aveva isolato nello stesso anno 1876 individui di *Vorticella nebulifera* nell'atto della gemmazione, non aveva osservato coniugazione tra i derivati di questa divisione, probabilmente perchè il suo scopo era diverso, cioè soltanto quello di distinguere gli stadi della formazione dei microgameti da quelli della coniugazione.

Tanto per la storia. Quanto a me, in seguito agli esperimenti fatti, non ritengo possibili eccezioni, non ritengo che si tratti di una vaga preferenza dei microgameti per una certa categoria di individui, ma vedo nella storia della divisione sessuale un fatto che è l'espressione di qualche cosa di molto intimo e molto profondo, e che probabilmente in qualche modo deve avere corrispondenza in moltissimi altri organismi, riguardo alla formazione dei sessi.

Gli esperimenti hanno anche dimostrato la possibilità di coniugazione tra parenti strettissimi. Onde riconoscere se essa decorresse normalmente, conservai alcune delle coniugazioni così ottenute, formando altrettante piccole culture, ove presto si riformarono microgameti e coniugazioni, ed anche tra parenti, al solito, mediante l'isolamento.

4. Partenogenesi dei macrogameti.

D'altra parte si è aperta anche la questione se quelle Opercularie che fungono da macrogameti, siano destinate necessariamente

alla coniugazione, oppure possano dividersi come tutte le altre, senza essersi coniugate.

Onde risolvere tale questione, isolai alcune Opercularie che avevano a fianco i due microgameti non ancora staccati, e quando questi si staccarono, li tolsi, lasciando ciascuna *Opercularia* femmina sola in una goccia. Il giorno seguente la divisione era avvenuta in ogni cultura; allora aggrinai microgameti tolti da altre Opercularie, ma non si formò nessuna coniugazione; ritolti i microgameti dopo alcune ore, osservai che in uno dei casi si formarono microgameti di nuovo, alla seconda generazione dall'individuo femmina primitivamente isolato; pochi giorni dopo se ne formarono numerosi in tutte queste piccole culture.

Questo esperimento mostra all'evidenza che l'*Opercularia* femmina può dividersi normalmente, e che già quando essa è divisa in due ha perduto completamente la sua femminilità, tanto che essa non è più suscettibile di coniugazione; ma più caratteristico ancora in questo senso è il fatto che già dopo la seconda generazione si è potuto un individuo dividere sessualmente; questa è prova chiarissima che la femmina si era di nuovo trasformata in un essere non differenziato sessualmente. Se si voglia interpretare la sua prima divisione come partenogenesi, è però da osservare che si tratta di una partenogenesi *sui generis*; nella quale da una femmina si producono due ermafroditi, o meglio due neutri, capaci di formare i due sessi al momento opportuno.

La questione analoga per i microgameti, se essi pure possano, isolati, ricostituirsi ad individui completi, pareva già a priori che dovesse avere risposta negativa; pure la sottoposi a varie prove, che ebbero appunto risultato negativo.

Questa partenogenesi dei microgameti, ricorda un fenomeno analogo riscontrato in altri Protozoi, p. e. dal PITTALUGA nella *Laverania*; ma da quel caso differisce, in quanto qui come abbiamo detto, e non in *Laverania*, la divisione toglie al microgamete la facoltà di essere fecondato; in ciò si può dire che il microgamete differisce anche dal microgamete della stessa *Opercularia* stessa, in quanto che, se non è mai stato possibile di osservare una divisione dei microgameti liberi, il primo prodotto della divisione sessuale si divide, per formare i due microgameti, anzi questi stessi possono andare incontro ad una divisione ulteriore, in rari casi, formando una rosetta di quattro microgameti, che poi si distaccano.

5. Alcuni raffronti.

Qui dobbiamo ricordare alcuni fatti, relativi ad altri Protozoi, nei quali la coniugazione tra stretti parenti torna in ballo; e, evidentemente, se essa sia connessa colla anisogamia, allora il problema della divisione sessuale si mostra come probabilmente risoluto in senso affermativo. Se in alcuni casi l'origine dei gameti che si uniscono è chiaramente dimostrata avvenire da individui diversi, in altri, come nelle Gregarine studiate dal CUVÉNOT, che le cose passino in questo modo è ritenuto probabile forse più per l'applicazione al caso singolo di un principio generale, che per una verifica diretta; non si ha in ogni modo la prova della necessità del fatto.

R. HERTWIG, nell'*Actinosphaerium eichhorni* (99, 1) ha invece dimostrato che normalmente avviene una copulazione tra cellule sorelle (cisti secondarie); questo è però un caso del tutto particolare, che non si avvicina al nostro della *Opercularia*, perchè questa coniugazione dell'*Actinosphaerium* non è l'unica che in esso si produca; l'A. non ritiene inverosimile che animali diversi si copolino, e che dopo questa copulazione provvisoria ne avvenga una definitiva tra sorelle, nei discendenti della coniugazione tra estranei. Siamo dunque in presenza di fenomeni complicati e per il momento incomprensibili nei loro intimi meccanismi, nonostante le lunghe e belle ricerche di R. HERTWIG; ma l'unione sessuale segue in fondo le leggi generali. Non così nelle Desmidiacee (citare da R. HERTWIG), nelle quali DE BARY ritiene verosimile che le cellule che si uniscono per formare la spora duratura, derivino da una stessa madre; e KARSTEN (97) venne per l'*Achnantes brevipes* allo stesso risultato. Recentemente anche LOEWENTHAL descrive in *Basidiobolus lacertae* la copulazione, che avviene tra sorelle; una certa differenza di grandezza, ma non notevole, sembra l'unico differenziamento sessuale riconoscibile.

Questi casi sono da HERTWIG paragonati a quelli di partenogenesi, nei quali, secondo BRAUER 93, l'uovo maturo viene fecondato dal secondo globulo polare. Io però mi permetto di manifestare un dubbio; ed è che, come la partenogenesi non è spesso un fenomeno normale, nè unico anche nelle specie che la presentano, come nell'*Opercularia* la coniugazione tra strettissimi parenti è possibile, e così nel *Chilodon*, ma pur non costituisce la regola, come nell'*Actinosphaerium* è la regola la copulazione tra sorelle, ma non è verosimilmente l'unica che esista nel ciclo vitale di questo organismo, — così anche nei casi sopra citati sia da ricercare se non esista nel ciclo vitale una forma diversa di copulazione, la quale si compia tra

ematossilina HEIDENHAIN, e col metodo della doppia colorazione al individui di diversa origine, e che venga in certo modo alternata con l'unione sessuale tra sorelle. Quest' ultima forma di unione sessuale, si mostra insomma come possibile, in molti casi, ma costituirebbe l'unico modo possibile solo in pochissimi; e sembra che questa eccezione contraddica alla regola generale, ed allo scopo per così dire dell'unione sessuale stessa. Ma di questo discuteremo più avanti.

VI. Opercularia coarctata. I fenomeni minuti della coniugazione.

Il primo punto di collegamento tra gli esperimenti fatti fin qui, ed i minuti processi che vado a descrivere, è stato quello di ricercare se il gamete femminile sia differente o no dalle comuni Opercularie. Di più, lo studio del micronucleo poteva collegarsi in modi imprevedibili a priori con le questioni fino ad ora trattate. E ciò avvenne infatti, come vedremo. Ma ora devo in certo modo rompere la catena dei ragionamenti, per descrivere con ordine i processi citologici.

I metodi di osservazione che ho adoperato sono i seguenti: Osservazione sul vivente, segnando il processo della coniugazione sopra ad uno stesso individuo. Ciò ho potuto fare mediante le mie camerette umide, ponendo una Opercularia in goccia pendente, durante la coniugazione; avevo prima sparso uno strato sottilissimo di albumina glicerinata sul vetrino, dove ho posato la goccia; così la goccia si è sparsa e la ho resa anche più sottile aspirando un poco di liquido con una pipetta. In tali condizioni ho potuto osservare molte volte i processi minuti, con i più forti obbiettivi ad immersione, dal di sopra. — Osservazione di preparati *in toto*. — Osservazione delle sezioni, colorate coi metodi indicati nei cenni tecnici.

1. Divisione comune, e divisione sessuale.

Cominciando a dire poche parole della divisione sessuale, dirò che non mi è stato possibile riconoscere in essa alcuna differenza dalle ordinarie divisioni, tranne quello che è dovuto alla sua asimmetria. Come cominci la divisione in generale, è qui molto interessante. Se noi osserviamo un macronucleo nelle sezioni all'infuori della divisione, notiamo in esso una grande quantità di corpi rotondeggianti più o meno grandi, che si tingono intensamente coll'

carmino boracico e verde metile sono debolmente verdi — io li ho rappresentati più in chiaro nella Fig. 47. Il micronucleo non lascia distinguere struttura. A un certo momento accade che la forma generale del macronucleo si altera, divenendo esso bitorzolato e più grosso; nello stesso tempo i corpi interni si riducono più piccoli, e perdono in parte la differenziabilità dal resto della sostanza, per mezzo dei colori (Fig. 48). In questo stadio il micronucleo è perfettamente normale. Soltanto più tardi, quando nel macronucleo le modificazioni indicate sono proseguite ancora nello stesso senso, si comincia a vedere il micronucleo allungato un poco, e differenziato internamente, si da mostrare un fuso (Fig. 49). Ma la cromatina non si distingue ancora in questo fuso, che non prende verde di metile nè molta ematossilina. Più avanti si differenziano i cromosomi che dalla piastra equatoriale si portano in due masse laterali, rimanendo connessi coi filamenti riuniti (Fig. 1). Intanto anche il macronucleo ha continuato a modificarsi, allungandosi, e riunendo nuovamente la sostanza cromatica interna in corpiccioli più grandi, che dopo la divisione del micronucleo si scorgono allungati, in atto di dividersi; dapprima, nelle primissime osservazioni mi era sembrato che questo stadio fosse incompletamente rappresentato nella divisione sessuale; ma invece potei poi trovarne molti casi, di cui ne è rappresentato nelle Fig. 50 e 3; osservando che la 50 rappresenta proprio il principio del fenomeno. Invece la Fig. 51 e la 52 ne rappresentano la fine. Non so come interpretare un nocciolo di sostanza più cromatica che compare nei micronuclei figli a un certo momento; è di durata transitoria (Fig. 51).

A R. HERTWIG — il cui nome ricorre così di frequente in questo scritto! — dobbiamo l'osservazione (88) che il micronucleo comincia a modificarsi nei Parameci, prima del macronucleo. Dobbiamo però confessare che colle mie osservazioni sull' *Opercularia coarctata*, la questione torna di nuovo un passo indietro. Non abbiamo potuto cogliere un micronucleo manifestamente modificato — inizio della divisione — senza che il macronucleo già lo fosse, e ciò nonostante che il micronucleo sia in questa specie, quando è nel così detto stato di riposo, più lontano dalla divisione che non quello dei Parameci, ove una distinzione tra parte cromatica ed acromatica esiste sempre. Evidentemente, qui come dappertutto, non si possono stabilire leggi generali.

Citiamo anche l'osservazione di STEVENS (03) nella *Boveria subcylindrica*, ove la divisione del macronucleo comincerebbe molto tardivamente, quando il micronucleo già è diviso.

Bisogna però tener conto non del principio della divisione, ma del principio delle modificazioni interne.

Il FAURÉ-FREMIET (04 1) ha descritto dei complicati processi, nella divisione del macronucleo, quando l'*Opercularia stenostoma* si scinde; evidentemente, quelle masse in cui esso si ridurrebbe, secondo l'A., masse destinate successivamente almeno in parte a distruggersi, sono fenomeni che si osservano nella coniugazione e nelle divisioni successive ad esse, che non hanno ancora consumato tutti i resti dei vecchi macronuclei. Tutto ciò che si sa della divisione degli Infusori, e la descrizione della divisione nella *Opercularia coarctata*, in base alle mie osservazioni, impediscono affatto di poter credere a questi fenomeni, brevemente descritti dal FAURÉ-FREMIET, troppo brevemente data la loro stranezza.

Dalla nostra descrizione è anche risultato quanto sarebbe fuor di luogo — per l'*Opercularia*, pensare ad una cariocinesi del macronucleo; a questo proposito ricordiamo soltanto che fino dal 1884 GRUBER aveva osservato nel macronucleo in divisione dei ciliati, strie che vengon tagliate per metà; e concludeva che la divisione dei Metazoi, nei Protozoi è più semplice — cosa che oggi assume un aspetto diverso visto che il micronucleo si mostra a questo rispetto ben più completo del macronucleo. Nell'*Opercularia* è forse più che negli altri accentuato il fatto che queste strie che si dividono hanno una disposizione irregolare e non vanno da parte a parte del corpo nucleare, — sepure in molti casi dove le descrizioni fatte suonano altrimenti, non vi è molto da rivedere, e da temere che un concetto quasi antropomorfo, abbia potuto falsare un poco la verità, tendendo a far assomigliare — quanto era possibile — la divisione del macronucleo, a quella dei nuclei in generale.

Da questo dubbio credo però si debbano escludere senz'altro le osservazioni accurate di R. HERTWIG sopra a *Spirochona gemmipara*; si tratta però di un Infusorio ben lontano da quelli che noi abbiamo studiato!

Concludendo per ciò che si riferisce alla divisione sessuale, possiamo dire che essa decorre come le divisioni ordinarie.

2. Individui neutri e macrogameti.

Se non è possibile trovare caratteri differenziali a proposito della divisione sessuale, non lo è nemmeno a proposito degli individui femminili che ne derivano; essi hanno un aspetto che li distingue

dagli individui ben pasciuti delle culture riccamente nutrite, e ciò si capisce; ma non differiscono in nessun modo visibile dagli individui poco nutriti, non sessualmente differenziati. Ho fatto anche delle misure, per decidere se una differenza quantitativa, nei rapporti delle varie parti, si potesse scoprire. E riporto una tabella esprimente i risultati ottenuti.

Larghezza in micron, del				Larghezza in micron, del			
macronucleo	micronucleo	corpo cellul.		macronucleo	micronucleo	corpo cellul.	micronuclei maschili
3,4-4,6	2,6	24		2,9-4,6	3,4	25	3,4
6,7-3,4	3,1	40		2,9-3,4	3,1	25	2,9
2,9-6,9	4	33		3,4-4,6	3,7	29	3,7
4,6-6,3	2,9	40		3,4-4,6	3,6	27	3,6
4-6,7	3,4	29		2,9-4,0	3,8	27	3,8
4,6-6,7	3,4	31		3,1-3,4	3,1	26	3,1
2,9-6,8	2,9	35,1	sorelle	4-6	2,9	29	2,9
4-6,7	3,4	26		2,9-4	3,1	27	3,1
4-6,7	3,4	25		2,9-4,6	3,1	33	3,4
3,4-6,7	3,4	27		2,9-4	2,9	24	3,1
4,6-6,4	3,1	43		3,4-4	3,1	31	3,4
3,7-4,6	3	26		2,9-4	2,9	29	3,4
3,4-4,6	2,9	24		3,4-4,6	3,7	27	3,7
3,4-4,6	2,9	26		2,9-4,6	3,4	31	3,4
4,6-6,7	3,4	29	sorelle	2,9-4,6	3,4	31	3,4
4,6-6,7	2,9	27		2,9-4	3,4	31	3,4
4,4-4,8	3,7	33		2,6-4	3,4	25	3,4
4,6-6,9	3,4	38		4-4,6	3,7	29	3,1
4,6-5,7	3,7	26		3,4-4,6			
4-4,6	3,7	25		3,4-5,7	4	29	
3,4-6,7	2,6	34		3,3-4	3,4	29	
4,6-6,3	3,4	39		3,4-4	3,4	26	
4,6-6,9	2,6	84					
3,3-4	3,4	25	sorelle	3,4-5,1	3	29	3,1
3,4-4,6	3,1	29		2,9-4,6	3,4	31	3,4
2,9-4,6	2,9	31		3,4-4,6	3	27	3,2
2,9-4,6	2,3	26		3,3-4	3,4	29	2,6
4-4,6	3,1	31		4-6	3,4	23	3,4
4,6-5,7	3,1	29	sorelle	3,4-4,6	4	35	3,2
3,4-4,6	2,9	43		3,5-4,5	3,4	29	3,4
4-4,6	3,1	33					
3,4-5	2,9	31	sorelle	2,9-3,4	3,1	25	3
4-6	3,1	31		3,4	2,9	27	2,9
4-5,7	3,1	29		3,1-4,6	2,7	27	3,4
4,6-6,1	3,4	29					
4-6,7	3,4	27					

Resulta assai evidente la maggior grandezza del macronucleo, negli individui comuni, e ciò indipendentemente dal fatto che essi sono *in toto* più grandi; la grossezza del macronucleo nei macrogameti arriva a $4-4\frac{1}{2}$ micron all'incirca, negli individui comuni è di 4 micron in uno dei casi, mentre in nessun altro caso è minore di $4\frac{1}{2}$, e per lo più è assai maggiore. Analogamente nei punti più stretti arriva circa a 3 micron nei macrogameti, mentre negli individui comuni è quasi sempre assai maggiore. Quanto al micronucleo, è difficile dire quale differenza vi sia tra le due categorie di individui, giacchè le differenze individuali sono maggiori assai di quelle riscontrabili tra una categoria e l'altra. Se però si confronta il diametro del micronucleo con quello di tutto il corpo cellulare, allora ne risalta una piccola differenza, nel senso che il micronucleo è relativamente più grande nei macrogameti che negli individui neutri. Ciò si deve però più alla diminuzione della grandezza del corpo, che all'aumento della grandezza sua. Non ho fatto medie di questi numeri, essendo essi troppo differenti tra loro, per permettere che le medie abbiano un significato preciso; ma questa piccola differenza risulta, dando un'occhiata alla tabella, assai chiara. Infatti, mentre il corpo cellulare dei macrogameti supera di rado e di poco i 30 micron di diametro, quello dei neutri è per lo più notevolmente più grosso, senza una corrispondente variazione del micronucleo.

Il significato di questi fatti è evidentemente molto maggiore in senso negativo che in senso positivo. Sappiamo infatti che la divisione sessuale si produce sotto l'influenza del digiuno, vale a dire in condizioni che riducono il volume generale dell'*Opercularia*, indipendentemente dalla sua differenziazione in macrogamete. Ed anche il macronucleo è ordinariamente molto più grosso nelle *Opercularie* ben nutrite che in quelle a digiuno; ora, sebbene i numeri riferiti nella tabella, perchè abbiano un maggior valore, siano tolti tutti da uno stesso preparato, è verosimile che le condizioni non siano state le stesse in tutti gli individui, ciò che è dimostrato dal fatto che alcuni, e non tutti, si sono sessualmente divisi; in questi ultimi verosimilmente l'influenza del digiuno si deve essere fatta maggiormente sentire, onde dobbiamo attribuire le piccole differenze osservate più a questo fatto che ad una eventuale connessione colla natura sessualmente differenziata dei macrogameti. Di fronte alla netta differenza fisiologica, abbiamo dunque una completa assenza di caratteri morfologici distintivi, tra macrogameti e individui neutri.

Da ciò passiamo allo studio della coniugazione.

3. Prima divisione, nel microgamete.

Quando il microgamete si attacca al macrogamete, in questo non si possono ancora scorgere differenze dagli individui normali; i suoi nuclei presentano l'abituale struttura. Vediamo ciò nella Fig. 3. Nel microgamete cominciano i primi fenomeni di modificazione, e consistono dapprima in uno scurimento del micronucleo (nei preparati all'ematossilina ferrica). Si cominciano a differenziare delle parti cromatiche (Fig. 53), ma procedendo oltre il fenomeno, tutto il micronucleo si tinge scuramente. Due stadi successivi della divisione sono rappresentati nelle Figg. 4 e 5, nè esiste alcun accrescimento del micronucleo, prima che si formi il fuso cariocinetico. Questa formazione deve ben avvenire per un orientamento della sostanza acromatica, mentre la sostanza cromatica che aumenta tende a portarsi verso il centro; la Fig. 53 rappresenta uno stadio preparatorio di questa formazione; gli stadi immediatamente successivi sono piuttosto difficili a esaminare, per la intensa colorabilità generale del micronucleo. Separatisi i cromosomi e portatisi ai poli del fuso (Fig. 5), si compie rapidamente la divisione, si dà aversi due micronuclei nel microgamete, ed uno nel macrogamete (Fig. 6 e 54).

Questa prima divisione è dunque simile alle comuni divisioni del micronucleo.

4. 1ª divisione di maturazione.

Si può dire che appena ora comincia il macrogamete a modificarsi, e specialmente il macronucleo, in cui si palesa una certa difficoltà alla colorazione; ciò si verifica sia nei preparati *in toto* al carmino e verde metile, sia nelle sezioni trattate col metodo HEIDENHAIN. La Fig. 54 mostra la cosa chiaramente, e mostra anche che la forma del macronucleo comincia ad alterarsi. Nella Fig. 6 si vedono invece i corpi cromatici del macronucleo allungati, ciò che non si osserva nella Fig. 54, la quale è probabilmente tolta da uno stadio di pochissimo precedente. Del resto le cose non sono del tutto chiare a questo riguardo, giacchè anche in uno stadio palesemente successivo (Fig. 56—57) può capitare che l'allungamento dei corpi cromatici non sia palese. Evidentemente non tutte le volte i processi si segnano colle stesso ordine preciso. Vediamo ora il micronucleo del macrogamete leggermente modificato nella sua colorabilità (Fig. 55) o leggermente allungato (Fig. 7), senza che nei due micronuclei del microgamete si possano ancora riscontrare le stesse modi-

ficazioni. Queste sopraggiungono però poco dopo. Infatti vediamo nella Fig. 56 la presenza di parti cromatiche, o per lo meno discretamente cromatiche, tanto nell'unico micronucleo del macrogamete, quanto nei due del microgamete. Però anche qui vi è una piccola differenza, in quanto nel macrogamete il micronucleo ha già una certa struttura a linee parallele, che può considerarsi come il primo abbozzo del fuso (di quale fuso, or ora vedremo). Tale struttura non è affatto riconoscibile nel microgamete. Per ciò che riguarda lo spazio perinucleare (sempre a proposito dei micronuclei), possiamo dire che esso è cresciuto assai a questo stadio, e specialmente nel macrogamete. Si passa poi ad un momento in cui tutti e tre i micronuclei hanno una struttura tipicamente a fuso, come mostrano le Figg. 8, 9, 58. In quest'ultima è da notare che quello del macrogamete non è per nulla più corto degli altri due; esso si presenta tale nella figura, perchè era orientato diversamente dagli altri, si da apparire di scorcio; credo però fosse più lungo. È da notare che in questo stadio la sostanza del micronucleo si tinge assai omogeneamente in rosa, nella doppia colorazione al carmino boracico e verde di metile, e rimane nei preparati all'ematossilina ferrica di quel colore giallastro che è proprio del mordente; in altre parole, non esiste in questo stadio cromatina — definita la cromatina come una sostanza che si tinge con determinati colori. Si ha dunque a questo proposito un ritorno indietro, rispetto a quel momento in cui cominciavano ad apparire modificazioni nel micronucleo; esse si palesavano appunto per la maggior parte colla comparsa di un poco di cromatina. Le modificazioni che ora subiscono questi fusi acromatici sono veramente straordinarie. Si trova una grande quantità di Opercularie che mostrano stadi del loro progressivo allungamento; con esso va d'accordo un progressivo assottigliamento, ed un raccogliersi delle singole fibre, che, ravvicinandosi sempre più, finiscono per non esser più visibili. Nelle Fig. 61 e 63 sono specialmente visibili queste cose. L'allungamento è notevole specialmente nel micronucleo del macrogamete. Il limite massimo di questo fenomeno è figurato nel suo insieme nella Fig. 11. Qualche volta, ma non sempre, si riesce a distinguere le fibre del fuso anche in questo stadio, come mostra la Fig. 63. È nettissimo il fatto che lo spazio perinucleare è interrotto ai poli opposti del fuso. Anzi qualche volta, come nel caso della Fig. 61, si ha l'impressione che il fuso allungatissimo si seguiti direttamente coi filamenti del citoplasma. Ho assai studiato tale questione, ma non son però riuscito a darne una risposta sicura, e ciò si comprenderà, data la delicatezza

delle strutture. Mentre da un lato si può seguire con sicurezza il progressivo allungamento del fuso come abbiamo descritto, si trovano anche forme, quali sono rappresentate nella Fig. 64 e segg., nelle quali il fuso non è completamente regolare, o contiene specialmente agli estremi un poco di sostanza fortemente cromatica. Mi trovai dapprima imbarazzato nel decifrare questi strani aspetti, e fu specialmente il macronucleo che mi servì a stabilire con sicurezza la successione degli stadi; esso infatti, come vedremo nella sua descrizione, si presenta in questi ultimi casi citati, nettamente più trasformato che nei precedentemente descritti; ed avendo io avuto modo di osservare moltissimi di questi stadi, che si incontrano assai facilmente dove sono coniugazioni, ed avendo trovato questo fatto costantemente, devo concluderne che non resta dubbio sull'ordine degli stadi stessi. Ed ora ecco di che cosa più particolarmente si tratta. Alle estremità del fuso allungatissimo — quando nelle figure il fatto è rappresentato ad una estremità soltanto, ciò si deve al fatto che esse son tolte da sezioni — alle estremità del fuso compare in forma di gocce minutissime, la sostanza cromatica (Fig. 66). Talora il fuso non ha lo stesso aspetto ai due estremi, essendo ad uno appuntato, all'altro un poco sfrangiato (Fig. 64, 65). La sostanza cromatica si può seguire per stadi nel suo aumento quantitativo, e si può anche riconoscere come dapprima appaiano dei granelli un po' più cromatici del resto, ma pur sempre poco cromatici (Fig. 64, microg.). Queste varie forme non credo, dati gli aspetti assai variabili nei particolari che possono assumere, che siano stadi successivi percorsi sicuramente da un sol micronucleo; credo piuttosto che piccole differenze possano esistere nei vari micronuclei quanto al loro sviluppo progressivo, piccole però, giacché sicuramente tutti arrivano ad uno stadio di fuso allungatissimo acromatico, e poi a quello raffigurato dalla Fig. 68, in cui contengono una massa proporzionatamente notevole di cromatina ai due estremi. Si osservi l'aspetto caratteristico degli spazi perinucleari a questo stadio; essi seguono ora la forma del micronucleo in tal modo, che ai due estremi, dove esso è un poco più rigonfiato, sono molto più larghi che nel mezzo. In questo periodo si può ormai escludere quel fenomeno sopra accennato, della continuità della sostanza micronucleare, agli estremi del fuso, col citoplasma. Tutto ormai farebbe sospettare che il micronucleo dovesse dividersi in due porzioni, in due micronuclei figli; abbiamo avuto il fuso, abbiamo ora un piccolo strozzamento mediano, notevole specialmente quanto agli spazi perinucleari. Ed invece, sicuramente no! Le cose tornano in un certo

modo indietro, e tutto è da rifare. Nessuno stadio è mai possibile rintracciare il quale permetta di concludere che i due estremi del micronucleo a questo punto debbano allontanarsi e dividersi; e ne sono sicurissimo avendo osservato centinaia di individui in questi stadi. Nè d'altra parte è possibile in alcun modo intercalare tra due qualsiasi degli stadi rappresentati dalle figure, tutte quelle complesse modificazioni di forma, con belle strutture cromatiche (cromosomi), delle quali ora andiamo a parlare. Di più, l'osservazione sul vivente dimostra che lo stadio di allungamento è seguito da un raccorciamento, prima della divisione in due parti. È possibile ricostruire il processo per cui da questo fuso allungatissimo si torna ad una forma sferica. Abbiamo intanto nella Fig. 69 un micronucleo assai allungato, con un poco di cromatina ad un estremo (l'altro non ora contenuto nella sezione) ed un poco anche nel mezzo. Abbiamo nella Fig. 70 dei micronuclei che sono allungati, ma non a fuso, e, nonostante il loro spessore discretamente grande, non contengono fibre distinguibili. Abbiamo nella Fig. 71 dei corpi con grande spazio perinucleare, senza cromatina, con struttura indefinibile; si osservi che nè questi stadi sono interponibili tra i precedenti, nè il micronucleo — della cui descrizione particolare tra breve — presenta più quelle forme di divisione che erano caratteristiche degli stadi precedenti. Dobbiamo dunque concludere che la cromatina sparisce, e che la forma torna ad avvicinarsi alla sferica. Anche qui non possiamo ritenere che le cose procedano esattamente in modo uguale in tutti i micronuclei; per quel che riguarda la sparizione della sostanza cromatica, e la variazione di forma, devono esservi delle differenze cronologiche, in questo senso, che talvolta l'uno dei fenomeni precede di un poco l'altro, tal'altra succede l'opposto. Ora prego il lettore di dare in primo luogo uno sguardo d'insieme alle seguenti figure, fino alla 78. Una forma quasi sferica ed una grande realezza della sostanza visibile del micronucleo, sono le caratteristiche di alcune di queste figure. Dei granuli poco cromatici, ma pur nettamente visibili, sono sparsi in mezzo ad un reticolo assai fine, occupando i punti di incontro delle sue maglie (per lo più). La cosa è specialmente visibile nella Fig. 76. Se si osserva la Fig. 74 che poco differisce dalla 71, e la 75 che pur poco differisce dalla 74, alla quale è uguale per la distribuzione generale delle parti, ma da cui si distacca perchè la sostanza ammassata in un punto nella 74, è sostituita da un gruppo di granuli nella 75 — ci si convincerà che dallo stadio della Fig. 71 si passa a quello della Fig. 76, senza che nella descrizione vi siano delle lacune, o che si

presentino delle difficoltà d'interpretazione. Io poi posso dire che per l'osservazione diretta di moltissime coningazioni ho rintracciato stadi che assomigliano a quelli figurati, senza essere ad essi completamente uguali, e che tutti concorrono a stabilire lo svolgimento del fenomeno nel modo anzidetto. Quanto alla Fig. 73, essa rappresenta uno stadio simile a quello della Fig. 71, che ne differisce soltanto perchè la cromatina è in parte rimasta nell'interno della massa micronucleare. Per agginnger fede a questa descrizione, per quanto riguarda questa sparizione della colorabilità coi colori caratteristicamente propri della cromatina nucleare, dirò che stadi i quali fanno pensare alla mancanza di un rigoroso accordo cronologico tra la variazione di forma — dallo stadio allungato alla forma sferica — e la diminuzione di cromaticità, si trovano in uno stesso preparato, e sia che questo sia molto, sia che sia piuttosto scarsamente colorato coll'ematosilina ferrica. Si trovano, nei due casi, aspetti come quelli della Fig. 73 e della 74, i quali dunque dimostrano che questa diminuzione di colorabilità può avvenire più o meno presto, in confronto colla variazione di forma.

Assistiamo ora ad un progressivo assestamento dei granuli *rari nantes* nei micronuclei della Fig. 76, e del reticolo su cui son disposti. Questo assestamento porta finalmente alla formazione di un bel fuso cariocinetico con cromosomi al centro, e nettissima distinzione tra sostanza acromatica e cromatica. Le Fig. 77 e 78 mostrano il passaggio, e la Fig. 79 mostra un bel fuso formato. Non oserei dire che i cromosomi quali appaiono nello stadio del fuso appena formato, Fig. 79, costituiscano nell'insieme una massa di sostanza minore che non i granuli delle Fig. 76 e 77; non se ne ha l'impressione per nulla nell'esame dei preparati. Invece la differenza di comportamento rispetto all'ematosilina col metodo HEIDENHAIN è nettissima. Si deve dunque concludere, che la colorabilità della sostanza che forma i cromosomi aumenta dallo stadio precedente a questo, per variazioni delle sue proprietà chimiche, non perchè essa si raccolga di più. Quanto allo spazio perinucleare, assistiamo ad un fatto curioso. Spesso, anche negli stadi precedenti, era possibile riconoscere in esso qualche fibra congiungente il micronucleo al citoplasma; quando poi dallo stadio di raccoglimento — dopo l'allungamento — la sostanza del micronucleo si divide in granuli, essa si sparge anche in quello che prima era spazio così detto perinucleare, dove ormai si vede distintamente estendersi il reticolo. Accade insomma un'invasione di questo spazio, per opera delle strutture nucleari, come è chiaramente visibile nella Fig. 76.

nella quale non esiste nessuna traccia di spazio circostante alle strutture — reticolo e granuli — del micronucleo. E così nella Fig. 78, nella quale il fuso è quasi compiuto. Poi, come si vede nelle Fig. segg., un piccolo spazio si va riformando, il quale però non acquisterà importanza altro che più tardi, quando le strutture nucleari, nello spartirsi, si raccoglieranno di nuovo in uno spazio più ristretto.

Tutto ciò che succede dal momento del massimo allungamento a quello in cui vi è il fuso cariocinetico, è malagevole a seguirsi nei preparati *in toto*, e perciò a queste modificazioni corrispondono nelle Fig. pochi stadi. Si osservi però la Fig. 12, la quale corrisponde su per giù alla 71 o 73, ed è buona conferma degli aspetti che in esse abbiamo descritti.

Ormai che abbiamo descritto questi processi, possiamo distinguere con due nomi diversi il vero fuso cariocinetico, da quello che appare nelle prime modificazioni del micronucleo; e chiameremo il primo, fuso primario, il secondo, fuso secondario.

Il fuso insomma si forma sempre nell'interno del nucleo, come per lo più nei Protozoi; sappiamo infatti che solo raramente si hanno fusi di origine extranucleari, come quello descritto da GRASSI e FOÀ (04) nelle Joenie.

La struttura delle fibre è la usuale, ciò che abbiamo esaminato attentamente ricordando che talora — come caso eccezionale è ben vero — esse si mostrano granulose (*Actinosphaerium*, HERTWIG 84).

Il primo apparire del fuso secondario, ci offre come mostrano le Figg. 13 e 79, la caratteristica di un allungamento nella direzione perpendicolare a quella delle fibre. Ma deve essere molto rapida quella modificazione di forma che conduce il fuso ad essere allungato per l'altro verso (Fig. 14 e 80) giacchè è possibile trovare i due micronuclei del microgamete che presentino uno l'allungamento per un verso, l'altro per l'altro. E per contro in tutti gli stadi della divisione, essi vanno molto d'accordo differendo solo di pochissimo l'uno dall'altro. Come anzi tale differenza tra i due micronuclei sia stata utilizzata (a proposito dell'individuo disegnato nella Fig. 13), per alcune misure d'orientazione, cfr. in seguito.

Anche gli stadi della Fig. 13 e 79 differiscono un poco tra loro, in quanto nella Fig. 13 le fibre sono divergenti, anzichè convergere ai poli del fuso. Una convergenza perfetta manca spesso nei primi stadi, e la Fig. 13 ci ricorda la Fig. 78; si deve dunque considerarla come rappresentante uno stadio precedente a quello della Fig. 79, e questo come di pochissimo precedente quello della Fig. 80.

La mancanza dei centrosomi si palesa in questa riunione tardiva

delle fibre fusoriali in un punto polare; ricordiamo che spesso casi di non convergenza verso due poli si osservano in analoghe condizioni, come per esempio in *Aulachanta scolymantha* (BORGERT, KARAWAIEW), nella quale la divisione nucleare si compie essendo i cromosomi trasportati verso due rette parallele, anziché verso due punti; rette le quali si incurvano — dopo la separazione delle due masse di cromosomi — producendo così un raccoglimento di essi.

Quanto al mutamento del rapporto tra i diametri del fuso, questo ci ricorda quanto ha osservato SCHEWIAKOFF (1887) nell' *Euglypha*, dove come qui il fuso è dapprima più largo che lungo, per acquistare secondariamente la forma usuale.

Divenuto ormai il fuso convergente ai due poli, i cromosomi si allontanano dal piano equatoriale, rimanendo in connessione per mezzo dei filamenti rinrenti. La Fig. 15 e la 81, di poco seguente come stadio, mostrano la cosa. Come avvenga la divisione dei cromosomi è impossibile determinare, data la loro piccolezza e la loro reciproca vicinanza.

Si passa ora per uno stadio in cui sembra che di nuovo la cromaticità sia un poco diminuita, come mostra la Fig. 82. E finalmente cominciano le due masse così allontanatesi, a separarsi. Qui siamo in un periodo che mal si deciferebbe colle sole sezioni; daremo prima perciò la descrizione di quello che avviene, in base all'osservazione dei preparati *in toto*, completando poi le osservazioni, per i particolari più minuti, collo studio delle sezioni. I filamenti riunenti (Fig. 16) si mostrano paralleli, assai esattamente, in uno stadio che si può ritenere di pochissimo seguente quello della Fig. 82, nella quale erano ancora più allontanati nel mezzo. Poi invece si avvicinano cominciando la cosa da uno o due punti. E nella Fig. 16 ora citata, si vede come sia il micronucleo del macrogamete ad uno stadio leggermente più avanzato di quelli del microgamete. Procedendo oltre il restringimento del fascio di filamenti, essi vengono a formare una specie di cordone, da cui, in vicinanza delle masse nucleari, partono filamenti; è possibile che laddove si vede un cordone, si tratti dei filamenti stessi semplicemente addossati tra loro. Questo stadio è ben visibile nella Fig. 17, in una delle coppie dei micronuclei del microgamete. Nell'altra coppia il cordone rinrentente non è rappresentato, perchè, per l'orientazione sotto cui si presentava, non si prestava bene al disegno. Ma esisteva come nella coppia in cui è disegnato. La coppia di micronuclei del macrogamete, è invece ad uno stadio leggermente più avanzato. Esistono due tratti di cordone, ma esso è rotto in un punto. Son

dunque rimasti due nuclei, che hanno una specie di prolungamento; è notevole il parallelismo di questi due prolungamenti. Le Figure di simili stadi, che abbiamo tolte dalle sezioni, offrono l'inconveniente che non mostrano le cose nel loro insieme. Ciò dipende dal fatto che una coppia di nuclei è quasi impossibile a trovarsi su un'unica sezione; ed è altresì molto difficile a rintracciarsi, nelle sezioni in serie, quel cordone riunente, acromatico, così lungo e curvo. Cosicché, non potendo facilmente acquistare la certezza di non ingannarmi in una ricostruzione di questo genere, ho preferito tralasciarla, considerando che la cosa appare nettamente, molto chiara, nelle Figure tolte dai preparati *in toto*. Quanto ai più minuti particolari, osserviamo nella Fig. 83a un micronucleo — non ancora distaccato dal fratello gemello — in cui la massa cromatica è ormai addensata a mezzaluna, dalla quale partono i filamenti rinrenti. Una colorazione di fondo non esiste in queste massa, formata di granuli cromatici; essa è rappresentata nelle figure, soltanto perchè sembra che vi sia quando si guarda tenendo fissa la vita micrometrica. La Fig. 83b mostra l'aspetto di un nucleo nello stesso stadio, visto però dal di sopra. Nella Fig. 34 vi è una coppia di micronuclei nel microgamete, nella quale le cose passano all'incirca come nella Fig. precedente, ed un'altra in cui si vede che lo stadio è lo stesso, pur non potendosi ben decifrare la struttura, a causa della orientazione sfavorevole. La figura è però un'interessante veduta d'insieme, perchè mostra che anche qui nel macrogamete le cose sono già un poco più avanti; il micronucleo che solo è in tale orientazione da potersi esaminare con frutto, mostra lo stesso prolungamento a cordone, che abbiamo osservato nei preparati *in toto*. È caratteristico il fatto che le fibre son qui poco visibili, ormai, sì che interpreto questo stadio, e quello della Fig. 85 come un poco seguenti a quello della Fig. 17; cosicché nel caso della Fig. 84 la precedenza di stadio per parte del macrogamete è anche più notevole. Quanto alla Fig. 85, essa mostra un'altra particolarità, che io veramente ho disegnato per scrupolo di coscienza, non osando darle nessuna importanza; si tratta di alcuni corpicciuoli bacilliformi, acromatici, che si trovano nel cono dove prima erano i filamenti riunenti. Questi corpi, che, come dicevo, sono acromatici, ossia non si tingono coll'ematossilina nel metodo HEIDENHAIN, li ho riscontrati alcune volte, e potrebbero essere un prodotto delle fibre del fuso secondario, che a questo stadio scompaiono. Un qualche cosa di poco diverso, ma che parlerebbe nello stesso senso — nel senso cioè di una permanenza della sostanza

delle fibre del fuso secondario, nei due nuclei figli — si osserva anche nella Fig. 86A dove si vedono due corpi riuniti ad u, nella massa del micronucleo, e che per forma e colorabilità ricordano gli altri ricordati. Non voglio però dare valore a queste osservazioni, soltanto le ho riportate, come possibile indicazione di un fenomeno da cercarsi su un materiale che sia per avventura più favorevole per la cosa in questione. Osservando la Fig. 85B, si vede anche che i granuli cromatici non sono più a questo stadio tutti intensamente cromatici. E si arriva con questo a quello stadio che è rappresentato nella Fig. 87, dove micronuclei quasi al termine dei fenomeni cariocinetici, mostrano ancora un allungamento da una parte, non più granuli intensamente cromatici; anzi essi hanno ormai un minor numero di granuli nettamente visibili, i quali si trovano in una sostanza di apparenza omogenea, e ribelle all'ematossilina di HEIDENHAIN. È molto difficile trovare stadi nei quali i quattro micronuclei del microgamete ed i due del macrogamete siano di aspetto più omogeneo di quelli rappresentati nell'ultima figura descritta. Io ne ho veduti talora, ma non li ho disegnati sul momento, e dopo non ne ho trovati più. Un periodo di riposo, dalla divisione cariocinetica descritta a quella seguente, non esiste affatto, i micronuclei, dall'aver un aspetto quasi omogeneo, ma con granuli visibili, passano subito alla formazione della nuova mitosi.

L'andamento della prima divisione di maturazione si può dunque così sintetizzare: Si forma nel micronucleo un fuso acromatico (primario), il quale subisce un cospicuo allungamento; al termine di questo, comincia a comparire sostanza cromatica, nelle punte del fuso, e poi per gran parte di esso, che intanto perde la forma tipica a fuso, non contiene più fibre distinte, e si ingrossa agli estremi; lo spazio perinucleare appare a forma di 8. Poi segue un raccorciamento, ed un ritorno alla forma sferica, con granuli sparsi — poco cromatici — su un reticolo acromatico. Questo si assesta a fuso (secondario), mentre i granuli si riuniscono in cromosomi intensamente cromatici. Essi si separano, i filamenti rinrenti — molto lunghi — si uniscono in un cordone riunente, che si incurva, fino a formarsi un semicerchio completo; allora il cordone si spezza, i suoi resti si retraggono, le due masse così separate perdono le cromaticità e le caratteristiche strutturali, e formano due nuclei simili agli ordinari micronuclei. Le fibre del fuso secondario sono dapprincipio divergenti, poi convergono ai poli, privi di centrosomi.

5. 2^a divisione di maturazione.

Su questa saremo assai più brevi che sulla precedente, perchè i fenomeni che in essa si osservano sono dello stesso genere, solo i processi sono alquanto accorciati. Ci possiamo perciò riferire a quanto abbiamo sopra imparato a conoscere, ciò che ci facilita l'intelligenza di quanto accade ora, e ci evita la ripetizione di una lunga — ed inutile — descrizione. Questa seconda divisione procede assai più rapidamente che la prima, e ne segue che nei preparati molto più rari sono gli stadi che non in quella. Ciò non impedisce di ricostruirne il processo, e specialmente di constatare che anche in questa esiste lo stadio caratteristico dell'allungamento, come la Fig. 18 mostra chiaramente. Nelle sezioni mal si può trovare individui in questo stadio che si prestino ad esser raffigurati, perchè i numerosi micronuclei, allungati in piani differenti e anche spesso curvi, compaiono soltanto a pezzetti nelle singole sezioni. La struttura di questi corpi non differisce sostanzialmente da quella dei corrispondenti della divisione precedente, solo la cromaticità finisce coll'essere più diffusa, invadendo anche l'interna massa micronucleare. La Fig. 88 mostra la formazione del fuso secondario, dopo lo stadio del raccoglimento, e presenta la caratteristica delle fibre divergenti, come nella divisione precedente, disposizione che si trasforma al solito, poco dopo, come mostrano le Figg. 19, 20 e 88. Uno stadio molto interessante è quello disegnato nella Fig. 21, nella quale i nuclei del macrogamete, già sono ciascuno diviso in due masse cromatiche, i cromosomi son già disposti ai due poli dell'ex-fuso secondario, e connessi coi filamenti riuniti. I 4 micronuclei del microgamete sono invece in stadio più precoce; veramente ho detto i 4, ma avrei dovuto dire due di essi, non perchè gli altri due non lo siano, ma perchè soltanto due sono talmente orientati da potersi ben distinguere la loro struttura; una esatta osservazione della cosa mi ha però convinto che anche i due orientati quasi verticalmente, non son giunti allo stadio in cui sono quelli del macrogamete. Si vede, nei due quasi orizzontali, che i cromosomi si trovano ancora verso il centro del fuso, ma non più connessi a formare una piastra equatoriale; evidentemente essi son colti proprio nel momento in cui stanno separandosi per avvicinarsi ai poli del fuso; ciò mostra al solito un leggero anticipo nei processi che si svolgono nel macrogamete. Il fatto di questa discordanza mostra anche quanto siano più rapidi i fenomeni di questa divisione, al confronto della precedente; infatti, p. e. nella Fig. 15 si aveva uno stadio nel quale i

cromosomi sono, sia nelle cariodieresi del microgamete che in quella del macrogamete, agli estremi della Fig. mitotica, ma non ancora raccolti in una forma a semiluna; invece nella Fig. 21, nel macrogamete già è avvenuto il raccoglimento a mezza luna, e nel microgamete ancora non son del tutto separati i cromosomi.

Compiutasi la separazione dei nuclei figli, questa volta segue uno stadio di riposo ben netto, nel quale la struttura del micronucleo ha quello stesso aspetto quasi omogeneo che nei micronuclei delle Opercularie comuni. Rappresenta un momento di poco precedente a questo la Fig. 90, ove ancora è considerevole lo spazio perinucleare, e la forma dei singoli micronuclei non è del tutto sferica. Le Figg. 22 e 91 corrispondono al minimo grado di struttura interna dei micronuclei.

Vogliamo ora fare una osservazione sopra al curioso fenomeno che si presenta nelle divisioni di maturazione.

Il fatto che in queste divisioni, dopo l'allungamento e dopo che il micronucleo è ingrossato agli estremi e lo spazio perinucleare fortemente ad 8, si torna a rimescolare ogni cosa per cominciare un'altra volta i processi riordinativi e compiere la spartizione in due, ricorda un poco la cariodieresi dell' *Amoeba limax* (VAHLKAMPF), nella quale la sostanza nucleare cromatica si divide in due grandi masse, che, già distanziate, sembrerebbe dovessero distaccarsi e formar due nuovi nuclei. Invece allora cominciano a formarsi i cromosomi, le masse diminuiscono di grandezza, insomma tutto è da rifare, e procede da qui in là su per giù come di solito.

Il nostro caso, e questo dell' *Amoeba limax* ugualmente, ci suggerisce una considerazione. Quando siamo nello stadio ad 8, dopo l'allungamento, nonostante l'apparente simmetria delle due parti, nella lunga figura, dobbiamo ritenere che nell'intima struttura non esista un assestamento simmetrico, rispetto al piano trasverso mediano. Questa intima simmetria si stabilirà soltanto dopo, coll'apparizione dei cromosomi; sì che, quello che a noi appare un ritorno indietro, il ritorno alla forma sferica, non dobbiamo considerarlo tale: se il nucleo si dividesse dopo lo stadio dell'allungamento, molto probabilmente le due metà non avrebbero proprietà uguali. Come poi questo intimo assestamento in due parti simmetriche si compia, e perchè nelle divisioni di maturazione richieda processi più complicati, naturalmente non possiamo indovinarlo.

La conclusione riguardante la seconda divisione di maturazione è molto semplice:

Questa seconda divisione di maturazione è simile alla prima, nella successione degli stadi, soltanto si passa più sinteticamente dal fuso primario allungato e cromaticizzato, al fuso secondario. Come tra poco vedremo, è in questa che avviene la riduzione numerica dei cromosomi.

6. Ultima divisione, prima della fusione nucleare.

Ecco adesso che incominciano per la prima volta a manifestarsi delle differenze tra i vari discendenti del micronucleo originario. Tutti meno uno nel microgamete, ed altrettanto nel macrogamete, cominciano a differenziare nel loro interno dei corpicciuoli nei quali aumenta la colorabilità; ciò è visibile nella Fig. 92, e nella 99 e segg., nelle quali ormai tutta la sostanza di questi micronuclei è intensamente colorabile coll'ematossilina HEIDENHAIN. L'unico micronucleo di ciascun gamete, che si trasforma diversamente, comincia ad allungarsi e mostrare insieme una struttura granulosa ben distinta (Fig. 93) alla quale struttura succede la differenziazione di fibre acromatiche, senza contemporaneo sviluppo di cromatina (fuso primario; Fig. 94 e 95). Poco dopo appare qualche corpo colorabile, ed in questo mentre i due fusi si orientano in un modo particolare, come è ben visibile nella Fig. 96 e meglio nella 24. — Qualche volta anche qui si sospetta che il processo della comparsa di sostanza cromatica ed il differenziamento delle fibre non sia in tutti i casi cronologicamente ordinato nella stessa maniera. Ma, sorvolando su questa questione di dettaglio, mi preme invece di rilevare il fatto che, sebbene qui si formi un bel fuso primario, differenziatosi nel micronucleo nello stesso modo che il fuso primario della prima divisione ampiamente descritta sopra, si passa direttamente dal fuso primario al secondario, ossia da aspetti paragonabili al primario ed al secondario di quella divisione; un solo fuso si forma in questa che ora siamo intenti a descrivere, i cui aspetti corrispondono, secondo lo stadio, rispettivamente a quelli del primario e secondario dell'altra. Ciò getta luce sul fenomeno della doppia formazione a fuso nelle divisioni di maturazione, e costringe a identificare il fuso primario col secondario, nonostante che un periodo intermedio esista nel quale non esiste traccia di fibre orientate a fuso, e nonostante che non si possa a tutto rigore asserire che ciascuna fibra dell'uno corrisponda ad una dell'altro.

I cromosomi vanno verso i poli (Fig. 97) e vi si raccolgono (Fig. 25); e così si arriva rapidamente alla formazione di due nuclei. La separazione non ha luogo come nella prima divisione di maturazione, caratterizzata dalla formazione dei cordoni riunenti che si incurvano. Mostra la Fig. 98 che i due nuclei figli già hanno assunto un aspetto quasi normale, eppure sono riuniti ancora da una sostanza di forma cilindrica, non strozzata, la cui struttura omogenea deriva da una trasformazione della struttura filamentosa precedente, quando c' erano i filamenti riunenti. Interrotta anche questa tenue connessione, si passa allo stadio della Fig. 26, stadio che rappresenta un momento assai fugace nei fenomeni che vanno svolgendosi. Si hanno qui, in ciascun gamete, due nuclei identici, e rispettivamente assai vicini.

La uguaglianza perfetta dei nuclei dell'ultima divisione prima della fusione, va d'accordo con quanto in generale si descrive sopra al nucleo stazionario e migrante degli Infusori, ma non con quanto ha osservato PRANDTL nel *Didinium nasutum*; la differenza tra due nuclei, in quel caso, non richiede però che la cosa sia generale, nè significa che uno dei due sia maschile e l'altro femminile, secondo la nomenclatura del MAUPAS. Questa differenziazione, non è omologa a quella che si osserva altrove, nei Vorticellidi p. e., tra micro e macrogamete. Il concetto del MAUPAS, che in questi Infusori sia maschile il nucleo migrante del microgamete, che si unisce con quello stazionario del macrogamete — concetto sorto evidentemente dal desiderio di fondere in una le due differenziazioni — non regge molto alla critica, giacchè, come abbiamo veduto nella descrizione dei minuti processi della coniugazione, i due nuclei destinati a fondersi, si portano tutti e due accanto alla membrana che separa i due gameti, poi questa sparisce ed essi si fondono; essi sono dunque uguali anche nell'atteggiamento; invece gli altri 2 si allontanano; se volessimo ad ogni costo fare un raffronto cogli altri Infusori, troveremmo più giusto di dire che sono due nuclei migranti, visto che gli altri due rimangono lontani dal punto di unione dei gameti, come fanno gli stazionari. La differenziazione osservata dal PRANDTL, è una sessualità *sui generis*. Le differenze che spesso si osservano tra due gameti in ogni specie di Infusori, condurrà forse a riconoscere un differenziamento sessuale tra i gameti, in qualche specie che presenti la doppia reciproca fecondazione, togliendo con ciò via ogni dubbio nella questione.

E ciò potrebbe avvenire, anche se si trattasse di un differenziamento sessuale constatabile soltanto fisiologicamente, secondo i concetti espressi a proposito della divisione sessuale.

A scanso di equivoci, ricordiamo la disuguaglianza nucleare nei gameti di *Myxobolus pfeifferi* (MERCIER), la quale ha un altro significato da quella del *Didinium*; si tratta questa volta di due nuclei appartenenti a due gameti differenziati anche *in toto*; abbiamo insomma uno strano dettaglio della differenziazione sessuale generalmente diffusa.

Facendo il solito riassunto, possiamo dire che l'ultima divisione è dunque essenzialmente simile alle ordinarie divisioni del micronucleo. Uno stadio di accrescimento che la caratterizzi, non è riconoscibile; tutt'al più si può dire che i nuclei sono un poco più grandi, alla formazione del fuso primario, e questo è d'accordo colla grandezza maggiore anche negli stadi successivi. Se — a torto — si volesse sostenere l'esistenza di uno stadio di accrescimento, prima del differenziamento del fuso, che distingua questa divisione dalle ordinarie, — non si avrebbe però mai nulla di paragonabile all'accrescimento (allungamento) subito dai micronuclei delle divisioni precedenti, perchè quello avveniva dopo differenziato il fuso primario; qui invece si passa direttamente dal fuso primario al fuso secondario, come nelle comuni divisioni.

7. Avvicinamento e fusione dei nuclei.

Terminata l'ultima divisione, in ciascun gamete i due nuclei, che hanno uguale aspetto, si allontanano, e si giunge così ad uno stadio in cui essi occupano posizioni esattamente uguali a quelle della Fig. 27, pur non essendo internamente trasformati, ed avendo ancora forma sferica. Non è anzi difficile trovare individui in questo stadio, che ho tralasciato di disegnare solo perchè facilmente intelligibile, nè molto differente dal precedente, e dal seguente raffigurato nella Fig. 27, nel quale si avverte una variazione di forma nei due micronuclei (rispettivamente appartenenti al macro- e microgamete) che si trovano in vicinanza. Allora succede anche talvolta, ma non sempre, che i due micronuclei lontani od uno di essi, sia pure schiacciato; se ciò avviene, come è rappresentato in piccolo grado nel microgamete della Fig. 100, ed un poco di più in quello della Fig. 99 e 27, l'orientamento dell'asse più lungo è costante, cioè esso si trova in direzione perpendicolare alla congiungente i due nuclei dello stesso gamete. L'aspetto dei due nuclei che si sono accostati è naturalmente meglio riconoscibile nelle sezioni. Richiamo l'atten-

zione sulle Fig. 99 e 100. Nella prima di queste vi è una grande vicinanza ma una parete divisoria esiste ancora tra i due nuclei; qualche fibra si trova nello spazio perinucleare, più distinta che in altri stadi. Nella Fig. 100 è sparita nel punto di separazione tra i due nuclei, la membrana del microgamete, sì che siamo proprio al momento precedente alle nozze.

La riunione dei nuclei si compie rapidamente, sì che è difficilissimo cogliere simili stadi, specialmente nelle sezioni; e la Fig. 28, da un preparato *in toto*, mostra che al momento dell'unione dei due nuclei, qualche radiazione è visibile, tutto intorno al nucleo di coniugazione. Questo acquista poi l'aspetto di un micronucleo così detto in riposo; la Fig. 29 ne mostra un esempio, nel quale qualche parte interna è un poco più chiara; non so bene quale valore si possa dare a tale particolarità, in ogni caso avverto che si dà il caso che essa non sia riconoscibile.

Forse si tratta, nel caso della figura, dei primissimi cambiamenti per la divisione successiva.

Più per scrupolo di coscienza che per altro, ricordo una strana idea di HOYER (99) secondo la quale nei Ciliati la coniugazione avverrebbe senza la fusione del nucleo; consisterebbe in uno scambio dei nuclei migranti, mentre gli stazionari andrebbero „zugrunde“. Ora, non solo la effettiva riunione dei nuclei è stata vista in molti casi, prima e dopo di lui, ma tutta la serie dei fenomeni di maturazione resterebbe poco comprensibile, senza la copulazione dei nuclei, e specialmente non si capirebbe come mai nei Vorticellidi a questi fenomeni vada soggetto anche il micronucleo del macrogamete, il quale seguendo l'A. dovrebbe morire senza traccia; inutile dunque portare in appoggio della sua tesi gli esperimenti dei fratelli HERTWIG, BOVERI ecc., „vornehmlich aber die neuesten Versuche von DELAGE 98 an Seeigelleiern, wodurch bewiesen wird, daß kernlose Eifragmente durch das Eindringen des Spermas mit Erfolg befruchtet werden können und entwicklungsfähig sind (pag. 129)“; di ciò *non est hic locus*. Nè certo le incomplete osservazioni di HOYER acquistano maggior fede per i pregi estetici — veramente considerevoli — delle sue figure.

Le radiazioni osservate per la prima volta da PRANDTL negli Infusori (*Didinium nasutum*), compaiono nell'*Opercularia coarctata* in uno stadio assai più fuggevole. Vediamo in certo modo una funzione centrosomica esercitata dal nucleo *in toto*, ciò che certamente è da porsi nella categoria degli argomenti per l'origine sua intranucleare, anziché citoplasmica.

La mancanza delle radiazioni attorno al punto dove convergono le fibre del fuso, non è cosa nuova; anch'essa è interessante in quanto tende a mostrare l'influenza del centrosoma nel fenomeno delle radiazioni; infatti esse si mostrano dove esiste un centrosoma; mancano, dove il centrosoma manca, non esclusi quei casi in cui sono assenti anche le fibre fuso (BLOCHMANN 94, KEUTEN 95 — *Euglena*) nonostante la presenza di un organo direttore della mitosi paragonato sì ad un centrosoma, ma veramente molto diverso da esso nelle sue manifestazioni.

La fusione si compie dunque tra due nuclei identici, ed in uno stato di completa omogeneità apparente, forma quasi sferica, un poco compressa nella direzione della linea d'unione. Poche radiazioni, momentanee, accompagnano l'atto della fusione — ed a questo segue un impiccolimento del nucleo di fecondazione.

S. Ulteriori divisioni e modificazioni, fino al ritorno alle condizioni normali.

Il nucleo di coniugazione tosto entra in nuova attività. Differenziato il fuso, compaiono i cromosomi, ed il nucleo si divide rapidamente, come è rappresentato nelle Fig. 30, 31, producendosi due nuclei del solito aspetto omogeneo (Fig. 32 e 101). Come si vede dalle figure, essi sono notevolmente più grandi dei soliti micronuclei, e ciò non perchè si siano fusi due in una colla coniugazione; infatti il primo nucleo, dopo la coniugazione, aveva una grandezza su per giù come i micronuclei delle Opercularie normali. La mancanza assoluta di uno spazio perinucleare allo stadio a cui siamo arrivati, è caratteristica (Fig. 101—102). Differenziandosi un fuso in ciascuno dei due nuclei (Fig. 102), si ha una nuova cariodieresi (Fig. 33 e 103), che conduce alla formazione di 4 nuclei. La Fig. 104 mostra le due masse nucleari di una di queste cariodieresi, già quasi omogenee di struttura, non però ancora di forma sferica; i filamenti riuniti sono ancora in parte distinti. Qualche fibra si distingue pure negli spazi perinucleari. Siamo dunque allo stadio a 4 nuclei (Fig. 34). Trai numerosissimi individui che si possono osservare con 4 nuclei, ve ne sono di quelli, come nel caso della figura citata, nei quali tutti e 4 i nuclei appaiono identici di grandezza, forma, struttura; questo fatto è dimostrato sia dai preparati *in toto*, sia dalle sezioni, e con i vari metodi di colorazione adoprati. Però il destino dei 4 nuclei è diverso, giacchè siamo già arrivati al momento

in cui uno restando tra essi definitamente micronucleo, gli altri cresceranno invece, trasformandosi in macronuclei. Tra tutti i processi che si svolgono durante la coniugazione, è certamente nella nostra specie questa trasformazione quello che presenta più varietà nel modo di svolgersi. Perciò ho disegnato parecchi di questi stadi, i quali non possono rappresentare stadi successivi di un processo uniforme; non sarà però difficile rintracciare in che cosa consistano le differenze individuali. Un accrescimento in grandezza ed un apparire di granuli nell' interno, è il primo fenomeno che si osserva. La Fig. 35 e le Fig. 105—107 lo mostrano. Questi granuli si raccolgono però talora, come nel caso della Fig. 106, lasciando un piccolo spazio tra la membranella micronucleare e la loro massa; o la cosa è più accentuata come nella Fig. 108 o, come nella Fig. 109, i granuli sono sparsi in una grande massa incolore, dando ai nuclei un aspetto che ha una superficiale somiglianza con uno stadio della prima divisione di maturazione. Non è però questo un fenomeno comune; in molti preparati non si trovano tracce di simili stadi. In altri casi i granuli, pur essendo diffusi in tutta la massa del nucleo, sono più accumulati nel mezzo (Fig. 110 e 36). Soprattutto però ci interessa la comparsa di sostanza cromatica; essa avviene per la massima parte alla superficie esterna del nucleo (Fig. 36, 111—114), sia che essa compaia in forma di granolini sparsi, sia che si formi in uno o pochi punti in forma di uno o più granuli addossati. Si trovano casi come quelli delle Fig. 115—116, nei quali poca sostanza cromatica esiste, ma centrale; essi sono però relativamente rari, devono quindi rappresentare una deviazione dal tipo più comune del processo. Anche un differenziamento in una grande massa di corpi cromatici (Fig. 117) è fenomeno raro. È invece comune assai che un grosso corpo interno sia presente contemporaneamente ad una serie di più piccoli periferici (Fig. 37) e che quelli più grossi si allungano, probabilmente per dividersi mentre si allungano i nuclei stessi; si passa così, per mezzo dello stadio Fig. 38 a quello della Fig. 39.

Se in una piccola cultura sono avvenute coniugazioni e non si dà ad essa alimento, dopo vari giorni si possono trovare ancora moltissime Opercularie con tre macronuclei poco allungati ed un micronucleo; la struttura dei macronuclei è in questo caso assai simile a quella dell' unico macronucleo normale, ossia si sono differenziati nell' interno corpi grandi e piccoli, più e meno cromatici. Occorre alimento perchè si producano quelle divisioni dalle quali risulta la spartizione dei macronuclei e la ricostituzione degli

individui normali. Abbiamo nella Fig. 42 un caso di divisione già compiuta, in condizioni di scarso nutrimento, che avevano lasciato tempo ai macronuclei di acquistare una struttura pressochè normale. Invece nella Fig. 41 ove si vede il micronucleo che ha già differenziato il fuso, ma non la sostanza cromatica, gli altri tre nuclei sono poco differenziati, specialmente dal punto di vista della cromaticità; un poco più avanti nelle loro trasformazioni si trovano quelli della Fig. 118. Si trattava di casi in cui una certa quantità di alimento fu trovata dagli individui in questione, e permise la loro divisione prima che i macronuclei fossero ben differenziati nella loro struttura. Come ultima figura del processo di coniugazione, si guardi la Fig. 119 nella quale la presenza di resti del vecchio macronucleo indica non esser l'individuo ancora molto lontano dalla coniugazione avvenuta; il macronucleo è ormai normale, non però molto ricco di granuli intensamente colorabili.

La spartizione dei macronuclei avviene, come abbiamo detto, quando i nuclei son diventati 4; con una prima divisione si forma una Opercularia che ha due macronuclei a lato di una che ne ha uno solo (Fig. 42), e con una seconda divisione di quella con due macronuclei, si formano altre due Opercularie con un solo macronucleo. Solo eccezionalmente accade che la divisione dei nuclei indifferenziati — dopo la coniugazione — proceda oltre il numero di 4, fino ad 8, come in altri Vorticellidi; si veda p. e. la Fig. 40; si tratta però di casi molto rari. Data questa rarità estrema, non son riuscito a cogliere questi individui nell'atto di dividersi per spartire i loro numerosi nuclei, ciò che del resto ben si capisce come possa avvenire, nè presenta uno speciale interesse; evidentemente occorrerà una divisione di più a ristabilire le normali condizioni.

Questa descrizione relativa alla formazione del macronucleo nuovo è abbastanza basata su un numero cospicuo di stadi, perchè si possa escludere un'idea proposta da alcuni, in base a ricerche incomplete; così anche recentemente il FAURÉ-FREMIET (04) studiando la coniugazione di qualche Vorticellide, suppone che i pezzi del vecchio macronucleo in parte si distruggano, in parte si riuniscano a formare un nuovo macronucleo; ma l'A. non ha osservato i fenomeni che avvengono nel micronucleo e nei suoi derivati, che altrimenti avrebbe di certo constatato anche nelle specie da lui considerate, la stessa formazione del nuovo macronucleo, da divisioni del micronucleo, e in maniera completamente indipendente dai pezzi del vecchio. Questi pezzi probabilmente saranno utilizzati come materiale alimentare, ma che essi passino anche solo parzialmente a formar

parte del nuovo nucleo, non esiste nessuno stadio che possa farlo snporre; i rapporti di vicinanza tra il macronucleo nuovo che sta trasformandosi ed i pezzi in questione, non hanno evidentemente nessun significato; chè se uno si volesse ad essi attribuire, allora saremmo forzati a concludere che anche i Batteri mangiati dall' Opercularia hanno il compito di trasformarsi in macronucleo, perchè essi, nei vacuoli alimentari, si trovano ad avere lo stesso rapporto di vicinanza con i nuovi nuclei — come mostrano le Fig. 111 e 114.

A partire dunque dallo stadio in cui si trova un solo nucleo — dopo la fusione dei due pronuclei — si hanno due divisioni, od eccezionalmente tre. I quattro nuclei derivati sono identici, però uno solo conserva grandezza e struttura, gli altri divengono più grandi, differenziando corpi cromatici nell'interno, la cui formazione ho seguito gradualmente, escludendo l'utilizzamento della cromatina dei vecchi macronuclei come tale. Si formano così di regola 3 macronuclei, e due divisioni dell'Opercularia intera ristabiliscono le condizioni normali.

9. Il numero e la riduzione dei cromosomi.

Quanto al numero dei cromosomi ed ai fenomeni di riduzione, ho incontrato serie difficoltà nella loro piccolezza e nel fatto che essi si trovano molto ammassati; specialmente nella seconda divisione di maturazione, in cui i nuclei sono più piccoli che nelle altre, riesce incerta la loro numerazione. Ho potuto contarli bene nell'ultima divisione, dove sono 8; nella prima divisione di maturazione ho acquistato la certezza che fossero più numerosi di 12, e spesso ne ho potuti contare 16; è dunque questo il numero normale: una riduzione si palesa perciò evidente, ed essa deve avvenire nella seconda divisione di maturazione, dove si posson male contare i cromosomi nello stadio della piastra equatoriale, ma certamente si aggirano tra i 12 e i 16; mentre d'altra parte è assai evidente che essi sono in numero considerevolmente minore in ciascun gruppo che si porta verso i poli del fuso, negli stadi successivi. Nell'ultima divisione si può riconoscere che sono 8, tanto nella piastra equatoriale, quanto poi, in ciascun gruppo che si porta verso un polo del fuso. Finalmente, nelle divisioni del nucleo di fecondazione, il loro numero è — ben chiaramente — tornato a quello normale. Si verifica quindi qua una riduzione numerica, direttamente osservata, come nel *Didinium nasutum* (PRANDTL) unico Infusorio in cui la riduzione sia fin qui

stata dimostrata, non quindi dei pochi Protozoi in cui è conosciuta — cfr. per questo la breve enumerazione in proposito fatta da BOTT (06) mentre descrive la riduzione nella *Pelomyxa palustris*, e da SCHAUDINN (05). Alcuni autori, come DOPLEIN nella *Noctiluca*, hanno invano cercato i fenomeni di riduzione, ciò che evidentemente non dimostra che essi manchino, data la difficoltà della ricerca nei Protozoi. Certo anche nel nostro caso siamo ben lungi da quella chiarezza di immagini che si osserva in altri Protozoi, e che ha permesso p. e. a SCHAUDINN di contare i cromosomi in varie specie ed in varie fasi di Tripanosomi (04). I fenomeni di riduzione sono del resto poco noti nei Protozoi, e SCHAUDINN (05) dice di conoscere solo i casi dei Tripanosomi (PROWAZECK 04 e 05 ed egli stesso 04) e quello del *Didinium nasutum*, sopra citato. La riduzione numerica in *Actinosphaerium* (R. HERTWIG 99) è molto probabile, ma il gran numero dei cromosomi impedisce di contarli esattamente.

In *Opercularia coarctata* dunque abbiamo come numero normale 16 cromosomi, che si riducono ad 8 colla seconda divisione di maturazione.

10. Modificazioni dei vecchi macronuclei.

Abbiamo seguito nelle loro trasformazioni i micronuclei, fino a formare i nuovi macronuclei. Dobbiamo ora accennare a quello che succede dei macronuclei dei gameti, destinati a distruggersi, secondo quanto generalmente si ammette. Si comincia ad osservare un mutamento di forma, quando i micronuclei sono già due nel microgamete (Fig. 54), ed i corpi interni cromatici si allungano come se dovesse incominciare una divisione (Fig. 6 e 7). A ciò segue uno spezzettamento in più parti, come mostra la Fig. 8. Si può però sorprendere uno stadio in cui i corpi cromatici sono di nuovo sferici e piccoli, Fig. 56—57. Forse le cose non passano sempre in modo esattamente uguale, forse si alternano momenti di allungamento e di raccoglimento in gocce. Al principio del fuso primario della prima divisione di maturazione (Fig. 58—60) la forma delle gocce cromatiche è molto varia, come anche quella dei pezzi. Soprattutto ci sembra interessante il fatto che in questo progressivo spezzettamento lo stadio dell'allungamento micronucleare ha un corrispondente nell'allungamento cospicuo dei pezzi del macronucleo, specialmente nel macrogamete, Fig. 61—62, allungamento che avviene in una direzione parallela a quella del micronucleo. Gli stadi ulteriori della fase d'allungamento portano nel macronucleo alla formazione definitiva

dei pezzi e ciò si può bene vedere nella Fig. 67, specialmente osservando quel corpo a forma di 8, ove si è sorpreso un granulo cromatico nel momento di dividersi. La cromaticità aumenta qui insieme che nel micronucleo, come mostrano le figure successive. I pezzi definitivamente isolati hanno un aspetto tipico, determinato dalla presenza di un grosso granulo cromatico centrale, ed alcuni piccoli periferici; oppure tutto il pezzo è cosparso di granuli cromatici di media grandezza (Fig. 70). Anche in stadi successivi, ma di poco, come mostra la Fig. 72, possono questi pezzi non essere tutti definitivamente formati. Più avanti i granuli periferici si rendono sempre meno visibili, ma spesso si osservano dei raggi partenti dal granulo centrale (Fig. 73). E con poche differenze, in cui i caratteri individuali possono anche aver parte, arriviamo allo stadio dell'ultima divisione, Fig. 94, nel quale la cromaticità dei corpi in questione è molto aumentata, e raramente si distingue un granulo centrale più grosso da altri periferici. Questi cumuli di granuli (Fig. 96) si riconoscono però sempre dai micronuclei non utilizzati, i quali hanno pure assunto una grande cromaticità, ma più diffusa e regolare. Dal momento della piastra equatoriale, la cromaticità dei resti del macronucleo è di nuovo diminuita, ed alcuni hanno l'aspetto che avevano prima, con un grosso granulo centrale, ma più spesso ci sono pochi granuli, periferici, e la massa è poco cromatica. La riorganizzazione allo stato di prima si effettua un poco più tardi, quando già i due ultimi micronuclei si sono prodotti ed avvicinati; e nemmeno avviene in tutti i pezzi (Fig. 100). Negli stadi successivi, dopo la copulazione nucleare, quando il nucleo di fecondazione si divide, i resti del vecchio macronucleo hanno i caratteri che avevano da principio tranne alcuni che sono proprio ridotti in granuli sciolti (Fig. 102). Arriviamo anzi assai avanti in queste condizioni, avvertendo che spesso invece dei granuli periferici c'è un contorno un poco più cromatico, e che spesso i raggi sono accentuati. Un aspetto più compatto ed omogeneo caratterizza i corpi che rimangono quando già l'Opercularia si divide od è divisa.

Senza poter minimamente afferrare quel che succeda in quei laboratori chimici di cui noi vediamo le muraglie, possiamo però affermare che questi corpi, mentre risentono delle condizioni del micronucleo nella fase d'allungamento della prima divisione di maturazione, subiscono anche dopo modificazioni, che devono esprimere una partecipazione al metabolismo generale della cellula, essendo connesse con determinati stadi.

Ciò non ci fa meraviglia, giacchè sappiamo che i corpi cromatici

del macronucleo sono oltremodo variabili anche indipendentemente dalla coniugazione; già GREENWOOD ne ha detto qualche cosa in rapporto collo stato di alimentazione; il significato preciso di tali modificazioni, però sfugge fino ad oggi, come ho indicato in un recente articolo (07, 1).

Per quanto si riferisce allo spezzettamento e trasformazioni dei vecchi macronuclei, durante la coniugazione, vogliamo insistere specialmente su tre punti: che le loro modificazioni continue di aspetto e cromaticità nei vari periodi della coniugazione, indicano una parte che essi prendano o subiscano in essa; che il modo con cui cominciano a trasformarsi, ricorda ciò che avviene nella divisione, e che durante la fase di allungamento, nella prima divisione di maturazione, i pezzi del macronucleo vecchio, specialmente nel macrogamete, assai numerosi ma pur sempre assai grandi, subiscono allungamenti paralleli alla direzione del micronucleo, mentre che proseguono nello spezzettamento.

11. Le coniugazioni osservate sul vivo.

Il tempo impiegato dai vari processi sopra descritti, lo ho potuto determinare colle osservazioni sul vivo. La temperatura era di circa 20°. Ho spesso osservato Opercularie isolate dopo la divisione sessuale, in cui la successiva divisione dell'individuo maschile tardava ad avvenire anche quasi un'ora; è possibile che questo tempo sia anche maggiore. La divisione una volta incominciata si compie in meno di un quarto d'ora, poi i microgameti impiegano qualche tempo a completarsi, sì che il primo si stacca dopo un tempo che può arrivare alle due ore. Più di mezz'ora può rimanere l'altro ancora attaccato. Dal momento in cui comincia la coniugazione, passa più di un'ora prima che cominci la divisione del micronucleo maschile. Incomincia la prima divisione di maturazione dopo un'altra ora circa, ma questa è di durata più lunga delle altre, sì che impiega di per sé più di un'ora per completarsi; solo dopo due ore e mezzo a tre dal suo principio, comincia la terza divisione, e di qui in poi le cose vanno assai presto, sì che dopo tre ore e mezzo è tutto finito, cioè l'Opercularia ha tre macronuclei ed un micronucleo. In questo stato può seguitare a stare anche più giorni, giacché mentre fin qui le cose procedevano come svolgimento di un fenomeno esclusivamente nucleare, ed interno, senza bisogno

di alimento, ora l'Opercularia deve diversi *in toto*; l'alimentazione ha perciò grande influenza; accade, nelle culture ove è nn'epidemia di coniugazioni, di osservare un numero qualche volta sterminato di Opercularie in questo stato; e si capisce: le coniugazioni si sono svolte per e nel digiuno, ed in tali condizioni tardano le successive divisioni ad avvenire; invece negli esperimenti, dando a mangiare agli individui che sono arrivati a questo punto, in poche ore si dividono per due volte e ridiventano normali. Come si vede l'intero processo (escluse le divisioni dell' Opercularia, necessarie per la spartizione dei macronuclei) dura 9—10 ore.

Più che per la determinazione di queste misure di tempo, le osservazioni sul vivo hanno interesse per la conoscenza di alcuni particolari fenomeni. Si segue p. e. assai bene — con forti obbiettivi ad immersione — la penetrazione del microgamete nel macrogamete; una volta che il primo ha aderito al secondo, si comincia a formare un'ernia, nell'interno del macrogamete, ed il micronucleo maschile che nel microgamete libero aveva un'altra posizione, è quello che ora sta avanti a tutto, ed avanza man mano che l'ernia avanza. Sebbene non si possa affermare che ad esso si debba la formazione dell'ernia, pure ciò sembra verosimile, dato questo suo comportamento (Figg. 43—45).

Un'altra questione assai importante è quella delle coniugazioni multiple, per ciò che riguarda la contemporaneità dei processi che si svolgono. Abbiamo visto che qui, come in generale, la divisione degli elementi maschili e femminili è contemporanea, tranne nel caso della prima divisione nel microgamete, la quale non ha corrispondente nel macrogamete. Quando avviene la coniugazione multipla, i processi sono contemporanei tra i due microgameti ed il macrogamete; anzi una volta ho osservato tre microgameti in coniugazione collo stesso macrogamete, e tutti e tre nello stesso identico stadio. Le osservazioni sul vivo spiegano come avviene questo fenomeno, ossia non le cause, ma il modo del suo svolgimento. Una volta, isolando un' *Opercularia* coi suoi due microgameti attaccati e ponendola in una piccola goccia, accadde che il primo entrò in coniugazione colla zia, mentre il secondo era ancora attaccato; osservai dapprima il proseguire dell'ernia nell'interno del macrogamete, poi il distacco dell'altro microgamete, avvenuto dopo mezz'ora dal principio della coniugazione; dopo alcuni altri minuti, anche questo si attaccò alla zia, ed incominciò

i soliti processi, indipendentemente dal fratello. Cominciava appena l'ernia dovuta al secondo microgamete, che già il primo era un poco allungato a fuso. Dopo altri 40', le due ernie erano diversamente grandi, ma i micronuclei dei due microgameti erano ormai allo stesso stadio, ugualmente allungati, e così seguitarono sempre, come può servire a darne un'idea la Fig. 46. Dal principio della coniugazione del primo microgamete al principio della divisione del suo micronucleo passò un poco più di un'ora e un quarto, un tempo un poco lungo, ma non tale da potersi dire con certezza che esso abbia rallentato il suo corso; l'altro però lo accelerò di certo, arrivando alla stessa fase in almeno quaranta minuti più presto.

Mostrano queste osservazioni, che la contemporaneità dei fenomeni nelle caridieresi della coniugazione, non è dovuta a che i loro svolgimenti richiedano un tempo uguale; esiste un diretto collegamento tra i processi dei gameti, per il quale gli stadi devono essere contemporanei, anche se, cominciati in momenti differenti, avessero la naturale tendenza a svolgersi successivamente. Le modalità di questo collegamento, le intime sue cause, naturalmente ci sfuggono.

Non sappiamo, nella lotta fraterna dei due microgameti, se l'influenza regolatrice sia da attribuirsi specialmente al macrogamete, che sembra per il momento quasi inoperoso; forse si stabiliscono correnti d'azioni tra i due microgameti stessi, attraverso al corpo del macrogamete.

12. L'accordo degli stadi nei gameti. Precedenza del macrogamete.

Una conclusione che non vogliamo tralasciare di mettere in evidenza, si riferisce alla parte che prendono i due gameti nell'accordo degli stadi di divisione. Abbiamo visto, a proposito delle osservazioni fatte sopra Opercularie viventi, che gli stadi in cui si trovano i nuclei dei due gameti si mettono d'accordo anche se uno dei due è originariamente più indietro dell'altro; sì che se ne è dedotta l'esistenza di qualche influenza tra i gameti. Ci sembra opportuno mettere in raffronto questo fatto con una constatazione la quale abbiamo fatto molte volte, nelle minute descrizioni dei processi cui i gameti vanno incontro. Abbiamo notato che spesso i micronuclei del macrogamete sono di qualche cosa più avanti nelle loro trasformazioni, di quel che non siano quelli del microgamete. La constatazione si è sempre

fatta riguardo a stadi poco facili a trovarsi nei preparati; e se ne capisce facilmente la ragione; uno stadio è tanto più facile a trovarsi, quanto più esso dura immutato o poco mutato a lungo; ed allora, se anche esiste una differenza di stadio tra i due gameti, essa deve rimanere inavvertita; invece quando si hanno rapide modificazioni, per quanto un disaccordo sia piccolo, esso è riconoscibile. A parte questa differenza di indole generale, raramente abbiamo trovato nuclei dello stesso gamete che fossero in stadio un poco diverso. Dobbiamo dunque concludere che al macrogamete probabilmente spetta una parte maggiore, nel determinare la durata dei singoli processi, influenzando sul microgamete in modo da accordarlo coi propri mutamenti. Ciò è tanto più strano, in quanto nel microgamete vi è una divisione di più, che si compie prima che nel macrogamete sia visibile qualche modificazione. La mia opinione personale è che le influenze siano reciproche tra i due gameti; una notevole differenza tra i due quanto alla parte che prendono agli intimi processi nucleari — non è mai constatabile, in nessuno dei regni della natura; forse la differenza di massa tra i due gameti è la causa del fatto che il più piccolo sia in certo modo dipendente nelle sue modificazioni, dal più grande.

Lasciando però da parte ogni tentativo di spiegazione che è qui incerta, ci contenteremo di insistere sul fatto che, mentre il microgamete dà principio alla coniugazione avvicinandosi al macrogamete ed avendo nel suo micronucleo una divisione che il macrogamete non ha — appena questa divisione è avvenuta, e per tutti i fenomeni precedenti la fusione dei pronuclei, il macrogamete si trova sempre in stadio un poco più avanzato del microgamete.

13. Variazioni della cromaticità nelle divisioni di maturazione.

La cromaticità delle strutture micronucleari presenta variazioni continue, e tali che due volte, nelle divisioni di maturazione, il nucleo diviene intensamente cromatico — nella fase dell'allungamento ed in quella del differenziamento dei cromosomi — con un periodo intermedio di scarsissima cromaticità. Questo fatto, se ben si considerino le descrizioni singole dei fenomeni osservati, mette in rilievo quanto si sia schematici tutte le volte che si parla

della cromatina come di un gruppo di pedine nere in mezzo a delle pedine bianche, pedine nere che farebbero soltanto evoluzioni di forma e di posizione, divenendo molto scure quando impiccoliscono, più chiare se ingrandiscono, rigonfiandosi. Tale tendenza è forse assai diffusa nella odierna citologia, e mi sembra che sia basata sopra a schemi non corrispondenti alla realtà.

Nell' *Opercularia*, abbiamo seguito le variazioni della colorabilità di masse considerevoli, abbiamo p. e. notato che i micronuclei nella fase di allungamento prima della secondo divisione di maturazione divengono completamente cromatici. Non possiamo per nulla sospettare che ciò dipenda da un intenso processo di assimilazione di piccolissime parti cromatiche preesistenti (invisibili), assimilazione alla quale poi segua una rapida distruzione della cromatina formatasi sì che restino corpiccioli cromatici invisibili, nella fase del raccoglimento. Anzi, possiamo dire che alcuni granuli di cromatici divengono acromatici, come è risultato probabile dalle descrizioni ai queste trasformazioni. Questi concetti sarebbe troppo lungo applicarli dappertutto dove è possibile; ma voglio citare l'esempio di quella curiosa divisione dell' *Amoeba limax* (VAHLKAMPF) dalla cui descrizione il lettore rimane coll' impressione che, dopo la fase della separazione delle grandi masse di sostanza cromatica, la formazione dei cromosomi debba necessariamente dipendere dalla cromatina in quelle masse accumulata; una specie di fato invincibile sembra impendere su questo fenomeno, nonostante che l' A. non sia risoluto nel fare tale ipotesi. Egli è — vorrei dire con una frase un po' rude, ma che mi sembra espressiva — che la cromatina non è una sostanza, bensì una proprietà. E con questo mi sembra di rispondere anche alle critiche che ha rivolte A. FISCHER alla tecnica microscopica delle colorazioni. Mentre sono d' accordo con lui nell' ammettere che le sostanze le quali ci appaiono ugualmente colorate possono essere molto più differenti di quelle che in altri casi possano apparirci diversamente colorabili — ed apprezzo molto le sue ricerche a questo proposito — mi sembra che le sue critiche non vadano per nulla rivolte alla tecnica, ma a quei tecnici che non valutano giustamente le prove delle cose osservate. Se discussi serenamente, i fatti per lo più non conducono a schematismi eccessivi — come ci è accaduto testè per la cromatina dell' *Opercularia*.

14. Omologie delle divisioni conducenti alla formazione dei pronuclei.

L'avere osservato che la prima divisione del micronucleo, nel microgamete dell'*Opercularia* — quella che non ha corrispondente nel macrogamete — nonché l'ultima divisione prima della fusione dei pronuclei, sono tra loro sostanzialmente uguali, ed uguali all'usuale processo di cariodieresi in questa specie, mentre le due divisioni intermedie sono sostanzialmente differenti, mette sempre più in luce la loro speciale caratteristica, mentre alle altre si devono paragonare divisioni usuali negli altri organismi. Quanto alla prima divisione nel microgamete, non sapremmo far niente di meglio che accostarci alla ben nota idea del MAUPAS, il quale la considera come un avviamento a quella condizione di due micronuclei, la quale è permanente in molti Ciliati; laddove, come negli Euplotidi e nei Vorticellidi, un micronucleo è andato colla evoluzione sparendo, compare però di nuovo, per un momento, durante la coniugazione. Siccome si tratta di un fenomeno proprio di un gruppo ristretto di Infusori, e tra i più differenziati, non si può andare a rintracciare omologie coi Metazoi, nelle divisioni degli spermatogoni ed ovogoni, precedenti la maturazione delle cellule germinali; a queste, secondo R. HERTWIG (95) — e mi sembra giustamente — si paragonano invece le divisioni che frequenti si osservano negli Infusori, prima che cominci la epidemia di coniugazioni; sono le „Hungerteilungen“ di R. HERTWIG. Quanto all'ultima divisione, le nostre osservazioni mostrano la sua natura non speciale, sicché si deve ritenere non abbia nulla a che fare colla riduzione e maturazione dei nuclei. E ci accostiamo perciò alla geniale concezione di BOVERI (92), sostenuta anche da VERSLUYS, che essa corrisponda alla prima divisione dell'uovo fecondato. RÜCKERT nei Copepodi ha dimostrato che la parte maschile e femminile della cromatina, nel primo fuso di divisione dopo la copulazione (ed anche nelle divisioni successive) si mantengono distinte. Per la condizione speciale della coniugazione dei Ciliati (e quali siano cfr. nello scritto del VERSLUYS), la formazione di questi fusi — paterno e materno — è andata avvenendo sempre in luoghi più distanti tra loro; i fusi si formano nei due gameti, separatamente, e si riuniscono poi le parti che ne sono originate — con fecondazione doppia incrociata. Ora io dico che se prima si poteva sostenere qualche altra teoria, adesso non si può più; e ciò è merito dell'osservazione di RUSSO e DI

MAURO, i quali nella coniugazione del *Criptochylum echini* hanno trovato fenomeni nuovi, nel comportamento dei nuclei, fenomeni i quali mi sembra realizzino nè più nè meno che uno stadio intermedio, nello sviluppo della coniugazione dei Ciliati, quale è stato immaginato dal BOVERI; nè è la prima volta che questo illustre citologo ha la soddisfazione di trovarsi dinanzi ad un caso di questo genere. L'importante fenomeno osservato dal RUSSO e DI MAURO e da essi paragonato a quanto avviene nei Saccaromiceti (GUILLERMOND 02) consiste in ciò che nel *Criptochylum* sunnominato, non vi è fecondazione doppia, incrociata; bensì i nuclei dei due gameti — dopo le due divisioni di maturazione — dopo queste sole due divisioni, si noti bene — si avvicinano al punto d'unione dei gameti stessi e si fondono; poi l'unico nucleo formatosi si divide *in situ*, e le due metà si allontanano, per andare ciascuna di nuovo in un gamete; qui abbiamo dunque rispetto alla copulazione il primo passo, consistente nella non fusione permanente dei citoplasmi, mentre i nuclei si fondono prima di dividersi, — ma per tosto separarsi — anzichè dividersi prima di fondersi, come per un differenziamento ulteriore succede negli altri Ciliati. Un altro stadio di trasformazione si può poi riconoscere p. e. nella coniugazione del *Dendrocometes paradoxus* (HICKSON e WADSWORTH 02), nella quale l'ultima divisione avviene come di solito, separatamente nei due gameti, ma molto vicino alla parete divisoria; cosa che, del resto, si verifica forse anche in altri Infusori.

È caratteristico a proposito di tale questione che, la fusione dei nuclei avviene in generale allo stato di fuso, nei Ciliati, come se ciò stesse a ricordare la tendenza che questi nuclei hanno ad anticipare i fenomeni di divisione, rispetto a quelli della unione sessuale. Nel caso dei Vorticellidi, come dalle minute ricerche sopra descritte risulta evidente, siamo un poco più indietro; vale a dire la fusione nucleare non accade allo stadio di fuso, bensì in una condizione di quelle che vengono dette „di riposo“ dai citologi. I nuclei che nella Opercularia si fondono in questo stadio, formano un fuso cariocinetico dopo la divisione, mentre negli altri Ciliati già l'hanno formato, prima di fondersi. Questo fatto è una conferma delle vedute del BOVERI, illustrate più ampiamente nel dotto scritto del VERSLUYS, giacchè qua, dove, dati i rapporti genetici dei Vorticellidi, compare una piccola retrocessione, vengono per l'appunto a mancare quelle condizioni che sono state invocate come moventi nell'anticipazione dei fenomeni di divisione sopra a quelli di fusione; queste condizioni sarebbero il grande differenziamento morfologico dei Ciliati, e la

conseguente utilità di una unione soltanto parziale, al momento della funzione copulativa; e qui appunto, nei Vorticellidi, per una ragione differente, ossia per un differenziamento ancora ulteriore dei gameti, si è ritornati, quanto al grado dell'unione dei gameti, alle condizioni più antiche, che si verificavano nella copulazione.

Anche CLARA HAMBURGER discute la questione di queste omologie, estesamente; essa combatte l'idea di GIARD che l'ultima divisione sia omologa alla seconda di maturazione dell'uovo; ora poi che si conosce che alla precedente divisione avviene la riduzione, nel *Didinium nasutum* e nell'*Opercularia coarctata* — per opera delle ricerche rispettivamente di PRANDTL e mie, l'idea di GIARD diviene insostenibile. Le due divisioni dette negli Infusori di maturazione sono ormai dimostrate corrispondere nei loro dettagli a quelle omouime dei Metazoi. — Un'idea dell'autrice è degna di essere raccolta: essa suppone che l'ultima divisione sia in qualche modo simile a quella che si osserva nelle Fanerogame, nelle quali le ricerche di GUIGNARD (00) e NEWASSCHIN (99) hanno dimostrato il fenomeno così detto della doppia fecondazione; dopo le divisioni di maturazione vi è una terza divisione, ed i due nuclei prodotti vengono fecondati ciascuno da uno spermio e da un altro da una parte l'embrione, dall'altra l'endospermio. Questa somiglianza che per la lontananza degli organismi considerati (quanto alla filogenesi) e per le condizioni così particolari in cui si verifica non può avere affatto il valore di una diretta omologia, suggerisce però una possibilità per le Angiosperme di cui si tratta: che anche qui una divisione dell'uovo fecondato si sia anticipata, in modo da prodursi due cellule nuove prima della fecondazione, di cui, in questo caso, ciascuna fecondabile da un distinto spermatozoo; si avrebbe soltanto una corrispondenza perfetta cogli Infusori, quando anche per gli spermatozoi si avesse una terza divisione, nelle specie a fecondazione doppia — cosa di cui, per quanto so, non è affatto il caso. In ogni modo dobbiamo riconoscere qui un caso interessante di convergenza.

Dunque, per riassumere la trattazione di questa ultima questione, possiamo dire che un fenomeno intimo dell'attività nucleare è tornato un poco indietro nei Vorticellidi, rispetto agli altri Ciliati, e forse in rapporto col fatto che una condizione che lo aveva determinato negli altri Ciliati (utilità dell'unione parziale dei gameti) è venuta per vie nuove di nuovo a mancare.

VII. Opercularia coarctata. Orientazione dei nuclei nella coniugazione.

1. Orientazione in generale.

Ed ora passiamo ad altre importanti questioni, riguardanti l'orientamento delle figure mitotiche nei vari stadi, questioni di cui abbiamo fatto solo pochi cenni nel corso della descrizione.

La prima divisione del micronucleo nel microgamete, si presenta, allo stadio di fuso con cromosomi distinti, orientata in direzione normale alla superficie di contatto. Da questo non deriva che i due nuclei cui esso dà origine siano orientati ugualmente; la loro congiungente è situata in un piano parallelo alla superficie di contatto. Perciò non si può supporre che la disposizione del fuso sia quella che è, collo scopo di dare una particolare disposizione ai due nuclei che ne derivano; essa è probabilmente conseguenza delle relazioni che esistono tra i due gameti. Quando avviene la divisione seguente, il micronucleo del macrogamete non presenta una orientazione particolare né fissa, venendo esso travolto nei movimenti che avvengono dentro all'Infusorio. Né ho potuto notare alcuna orientazione fissa dei due nuclei in divisione nel microgamete, rispetto alla superficie di contatto col macrogamete. Presentano invece una orientazione caratteristica i due fusi primari e secondari di questi ultimi nuclei, tra di loro. I loro assi sono perpendicolari,¹⁾ o poco si allontanano da questa posizione. Poco più sotto giustificherò questa affermazione, riportando il risultato delle misurazioni fatte a questo proposito. Nel periodo dell'allungamento l'orientazione più usuale è quella di una certa tendenza al parallelismo; ma non mi sembra punto che questo sia un fenomeno costante, avendo spesso osservato dei nuclei molto lunghi, in orientazione varia. Quando i cromosomi si portano verso i poli del fuso e ne risultano due masse cromatiche riunite da filamenti, si può spesso sospettare che la orientazione precedente (consistente nell'avere le strutture corrispondenti, perpendicolari tra loro) sia conservata; vedasi p. e. la Fig. 17. Ma la relativa non frequenza di questi stadi, e la difficoltà di fare misure in questo caso, mi hanno distolto dal proposito di portare la questione anche qui sul terreno

¹⁾ Questi assi sono sghembi, con questa perpendicolarità voglio esprimere brevemente il fatto che il piano su cui giace la loro congiungente più breve ed uno di essi, è perpendicolare all'altro. Nella misura dell'angolo tra i due assi¹⁴ si tratta dunque appunto dell'angolo formato tra uno di questi piani e l'altro asse.

delle cifre. Quello che però è certo, per l'osservazione diretta, è che i due pezzi del cordone riunente, dopo che è rotto, rimangono orientati parallelamente (come mostra la Fig. 17) indicando in questo caso che strutture simili sono parallelamente orientate.

Nella seconda divisione di maturazione, si ripete per il macrogamete quanto abbiamo detto per il microgamete nella divisione precedente; e nel microgamete l'orientamento dei 4 fusi è difficile a studiarsi, dato il loro numero; ma quando due di essi sono lontani dagli altri 2, si constata la perpendicolarità tra i due di ciascuna coppia. Nello stadio dell'allungamento, i 4 nuclei sono irregolarmente disposti.

Nell'ultima divisione, si hanno altre orientazioni. Il nucleo del microgamete, che si divide, mentre gli altri degenerano, occupa nelle prime fasi delle sue trasformazioni una posizione centrale nel microgamete, ma non ha una orientazione determinata. Quello del macrogamete, è vicino alla parete che separa in due gameti, ed anch'esso senza orientazione. Quando comincia a comparire il fuso, comincia anche a manifestarsi una certa orientazione (Fig. 94) la quale è nettissima nello stadio della piastra equatoriale (Fig. 24): i due fusi hanno per asse la medesima retta. Molti individui che ho esaminato in questo stadio, hanno mostrato sempre la cosa così netta, che non ho creduto punto necessario procedere a delle misurazioni; la cosa sarebbe stata più facile che per l'orientazione perpendicolare delle divisioni precedenti, ma era inutile. I due fusi, oltre ad essere orientati in questo modo, sono anche talmente vicini, che solo una membranella, la parete divisoria dei due gameti, sta tra di essi. Poi, procedendo la divisione, essi si allontanano un poco, perdendo contemporaneamente l'orientazione che avevano, ma non del tutto; ossia le due masse nucleari che si formano da ciascun fuso rimangono su due rette che fanno un angolo piccolo tra loro, senza però essere parallele né coincidere. Le Fig. 25 e 26 mostrano chiaramente la cosa. Questo leggiero disorientamento non impedisce però di decidere quali siano i nuclei destinati ad unirsi: questo anzi è già deciso nello stadio della Fig. 94; non appena cioè, nella ultima divisione, i nuclei dei due gameti cominciano ad allungarsi, è fisso che la parte di ciascuno che è rivolta verso il compagno, si trasformerà in pronucleo, rimanendo l'altra destinata alla degenerazione. Questo fatto però non dice nulla se la destinazione di uno dei nuclei alla copulazione sia dipendente dalla posizione o da qualche differenza esistente tra i due nuclei gemelli. Il МАУРАS, che è della prima opinione rispetto agli

Infusori in genere, si basa appunto sulla mancanza di caratteri strutturali diversi visibili tra i due nuclei, di cui uno rimane stazionario, e l'altro migra nel gamete compagno — nella coniugazione parziale dei Ciliati.

2. Misure degli angoli tra i fusi omosessuali.

Vogliamo ora intrattenerci maggiormente del fatto principale osservato in questo studio della orientazione delle figure mitotiche, cioè della perpendicolarità dei due fusi omosessuali, nella prima divisione di maturazione del microgamete e nella seconda del macrogamete. Questo fatto sembra avere una importanza, messo insieme coll'altro che nell'ultima divisione, l'unica in cui i fusi eterosessuali si trovino vicini, l'orientazione è invece sullo stesso asse.

Mi posi dunque alla ricerca di un metodo per misurare l'angolo fatto dagli assi dei fusi cariocinetici. Evidentemente l'osservazione diretta dei preparati non dice molto a questo proposito, perchè i fusi capitano irregolarmente orientati rispetto all'asse del microscopio, e solo in casi eccezionali si può giudicare dell'angolo che fanno tra loro, così a semplice sguardo, quando essi capitino ambedue perpendicolari all'asse del microscopio, od uno perpendicolare e l'altro parallelo. In questi casi l'impressione è nettissima, che siano essi tra loro perpendicolari; ma meglio risulta, anche in questi casi, la cosa dalle misure. — Determinazioni di questo genere richiedono in primo luogo che i preparati su cui sono fatte, siano per quanto è possibile soddisfacenti a certe condizioni. Le Opercularie non devono essere troppo contratte dai reagenti, nè compresse dai vetrini. Quanto alla prima cosa, una buona fissazione, e passaggi molto graduati nei vari reattivi, servono all'uopo; quanto alla seconda condizione, bisogna non appoggiare i due vetrini uno sull'altro, ma interporvi qualche cosa, dei capelli per esempio. Ma per poter osservare in queste condizioni le Opercularie mediante i più forti ingrandimenti, è anche necessario di ricorrere al metodo dell'attaccamento spontaneo sul coprioggetti, come è descritto nella parte tecnica. Questi preparati è anche bene che siano inclusi in balsamo, non in glicerina; le misure si fanno dopo qualche giorno che il preparato è chiuso, così il balsamo essendosi un poco addensato, non è possibile che le Opercularie si muovano, nell'osservazione coll'immersione.

Quanto alle misure esse non offrono nessuna difficoltà di principio, ma solo qualche difficoltà tecnica, data la piccolezza degli oggetti da misurare. Servendomi sempre dei più forti obiettivi ad

immersione, ho proceduto alle determinazioni seguenti: la lunghezza degli assi, quale appare misurata col micrometro oculare, ossia la proiezione orizzontale di questa lunghezza; la proiezione verticale, servendomi della vite micrometrica del microscopio; mettendo in fuoco prima un estremo dell'asse fusoriale, e poi l'altro, si leggono due numeri nella graduazione della vite micrometrica. La loro differenza si moltiplica poi per un coefficiente — nel nostro caso vicinissimo ad 1, esprimente il rapporto tra l'indice di rifrazione nel balsamo del Canada e nell'olio di cedro. Così, adoperando obbiettivi forti ad immersione, si misura con sufficiente esattezza anche la proiezione verticale. Infine misuro l'angolo fatto dalle proiezioni orizzontali degli assi dei due fusi, e ciò col seguente procedimento: adoprando l'oculare micrometrico, faccio coincidere colla direzione delle linee della graduazione l'asse di uno dei fusi. Poi, girando il tavolino del

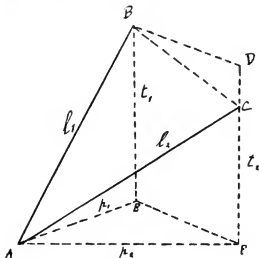


Fig. 2.

microscopio — munito di graduazione angolare, — arrivo a far coincidere con quella direzione l'asse dell'altro fuso. L'angolo di cui ha ruotato il tavolino è uguale all'angolo fatto dalle due proiezioni orizzontali. Così procedevo nelle prime misure; poi modificai di poco l'ultima determinazione, per renderla più spiccia: lascio fermo il preparato ed il tavolino; faccio invece ruotare l'oculare, insieme

colla parte superiore del microscopio, la quale presenta un' avvitatura al principio della parte più grossa del tubo; in corrispondenza di tale avvitatura ho fatto, nel microscopio, un' apposita graduazione, servendomi di quelle piccole tacche che si trovano nell' apparecchio — almeno nei più usuali modelli — in quel punto. L'angolo di rotazione fatta corrisponde sempre a quello delle proiezioni degli assi.

Con queste tre serie di misure l'angolo fatto dai due assi risulta determinato; e si calcola nel modo seguente. Suppongo di trasportare uno degli assi parallelamente a sè stesso, finchè uno dei suoi vertici coincida con un vertice dell'altro; indico con α l'angolo fatto dai due assi, con β quello delle proiezioni orizzontali; con l_1, l_2 le lunghezze degli assi, con p_1 e p_2 rispettivamente le loro proiezioni orizzontali e verticali; e completo il rettangolo $BEFD$. Allora risultano dalle proprietà dei triangoli rettangoli ABE, ACF e BCD e da quelli non rettangoli AEF e ABC , le uguaglianze seguenti:

$$\begin{aligned} l_1^2 &= p_1^2 + t_1^2; \quad l_2^2 = p_2^2 + t_2^2 \\ (BC)^2 &= (BD)^2 + (DC)^2 = (EF)^2 + (t_1 - t_2)^2 \\ (EF)^2 &= p_1^2 + p_2^2 - 2p_1 p_2 \cos \beta \\ (BC)^2 &= l_1^2 + l_2^2 - 2l_1 l_2 \cos \alpha \end{aligned}$$

Da queste formule deriva, sostituendo nell'ultima i valori di l_1 ed l_2 dati dalle prime due, e quello di $(BC)^2$ dato dalla terza e quarta, e riducendo:

$$\cos \alpha = \frac{p_1 p_2 \cos \beta + t_1 t_2}{\sqrt{(p_1^2 + t_1^2)(p_2^2 + t_2^2)}}$$

Come si vede, la formula dà due valori per il $\cos \alpha$, i quali differiscono solo per il segno; ossia essa dà insieme i coseni dei due angoli supplementari formati dagli assi in questione, ciò che per noi non ha nessun interesse, limitandoci sempre a prendere il valore positivo, ossia l'angolo minore di 90° . Su un altro punto è anche da fare attenzione; che t_1, t_2 hanno lo stesso segno quando come nel caso della nostra figura i due assi hanno gli estremi liberi ambedue dalla stessa parte del piano AEF ; ma se invece si dà il caso contrario, allora essi devono essere evidentemente presi con segno diverso, ciò che porta nella formula una differenza; il loro prodotto nel numeratore acquista il segno negativo, anzichè quello positivo.

Prima di riferire i risultati numerici, sarà bene riportare un esempio completo, onde il lettore possa acquistare una idea precisa

della cosa. Le lunghezze degli assi siano AB ed $A'C$, riportandoci alla figura di sopra, e convenendo che A ed A' siano quei vertici che vengono a coincidere, collo spostamento di un asse parallelamente a sè stesso. Nell'esempio che riportiamo, si tratta di un microgamete, e precisamente di quello del quale un fuso è rappresentato nella Fig. 13. Le misure hanno dato:

$$\begin{array}{llll} AB = \mu 7,75 & A'C = \mu 9,3 & \text{angolo } BAC = 79,6^\circ \\ A = 9,1 & B = 8,9 & A' = 4,8 & C = 7,1 \end{array}$$

Nell'ultima riga sono indicati, per ciascun vertice di ciascun asse, i numeri letti nella graduazione della vite micrometrica (grande stativo per la microfotografia, di ZEISS, ultimo modello). Siccome A ed A' sono i vertici che vengono a coincidere, e passando da A a B l'asse del fuso è diretto verticalmente da una parte, mentre passando da A' a C è diretto dall'altra parte del piano orizzontale passante per A (piano AEF — infatti mentre è $B < A$, $C > A'$), il prodotto delle proiezioni verticali va qui preso col segno negativo. Quanto al valore in micron di queste proiezioni, esso è dato dalla differenza di altezza dei due fuochi (per il primo asse, $9,1 - 8,9 = 0,2$) moltiplicata per il valore in micron di ciascuna divisione nella graduazione della vite micrometrica — ossia moltiplicata per 2 — e moltiplicata ancora per un coefficiente, poco diverso dall'unità, il quale si ottiene facendo il rapporto tra l'indice di rifrazione della sostanza in cui si trova l'oggetto da misurare (balsamo del canadà) e quello della sostanza in cui avviene lo spostamento dell'obiettivo (olio di legno di cedro). Applicando la formula, si ottiene dall'esempio citato, il valore di $\alpha = 89^\circ$. Si noti che in questo caso i due assi erano un poco differenti di lunghezza, come risulta dai numeri (tanto la proiezione orizzontale che la verticale del secondo è maggiore di quella del primo), ma questo fatto che si verifica in grado piccolissimo di solito, dipende da una circostanza particolare del caso riportato, ove, come verrà detto poco sotto, uno dei fusi era allungato in direzione delle fibre, l'altro nella direzione perpendicolare.

Riporto ora i risultati numerici delle determinazioni fatte nei microgameti. Si tratta sia dei fusi primari, sia dei fusi secondari, sempre in tale stadio che la forma sia quasi sferica, o pochissimo allungata; le misure riguardano la prima divisione di maturazione. Il caso citato sopra è compreso nella lista. Fatto il calcolo, si son sopresse sempre le frazioni di grado, segnando il numero più vicino al risultato effettivo. I vari casi sono ordinati per valori decrescenti:

90° 89° 89° 86° 86° 86° 86° 84° 83° 82° 81° 80° 77° 77° 77°
 76° 76° 75° 75° 72° 71° 66° 65° 65° 64° 59° 56° 55° 55° 54° 52°.

E per la seconda divisione nel macrogamete:

84° 84° 78°.

A queste si aggiungono alcune altre determinazioni, fatte nelle prime ricerche, su preparati che non erano stati fatti appositamente per questo scopo; in essi non si era eliminata la possibilità di una compressione delle Opercularie; gli individui scelti per le misure non mostravano però traccia di compressione; si tratta della prima divisione di maturazione nel microgamete:

84° 83° 76° 56° 56° 48°.

Infine, riporto alcune misure fatte in altri stadi, nei quali vi era il fuso primario allungato più o meno:

75° 50° 48° 32° 29° 21° 10°.

Abbiamo in tutto 41 caso per le misure nello stadio di fuso non allungato e 7 casi per altri stadi. Questi 7, come si vede, mostrano che non esiste nessuna regola dal momento che gli angoli variano da 75° a 10°.

Nello stadio delle piastre equatoriali invece, nessuno dei casi misurati — e sono 41 — ha indicato l'esistenza di un angolo, tra i due assi, inferiore a 45°; anzi il più piccolo angolo misurato è di 48°; vi sono 12 casi sopra 80°, ed in tutto 27 casi sopra 70°. Ora se nessuna forza vi fosse che tendesse a orientare questi assi tra loro, evidentemente sopra 41 casi non sarebbe possibile che tutti fossero compresi tra 45° e 90°. Se una tale tendenza esiste, noi siamo portati a ritenere che essa non consista in una orientazione tra 45° e i 90°, bensì in una forza che orienterebbe i due assi in direzione perpendicolare tra loro, se non vi fossero degli ostacoli ed impedimenti; a questo concetto siamo portati da due argomentazioni; prima, dal fatto che nelle misure stesse, in seno a questo angolo compreso tra 45° e i 90°, sovrabbondano i casi che si avvicinano, anche in modo veramente mirabile, ai 90°; in secondo luogo, le forze capaci di manifestarsi con una tendenza all'orientazione, in due corpi simmetrici rispetto a un asse e al piano equatoriale, e girevoli, agiscono per ragione di simmetria in tal modo da tendere a produrre una orientazione parallela o perpendicolare.

Posso poi aggiungere i risultati delle osservazioni fatte sul vivo, nei quali non sono riducibili in numeri, trattandosi di oggetti in continuo movimento, ma sono molto caratteristiche. Nello stadio di fuso pochissimo allungato, che corrisponde a quello delle misure fatte, i due nuclei maschili ed i due femminili quando è il loro turno,

appaiono come orientati ad angolo retto, orientazione che conservano nonostante i movimenti della cellula; l'osservazione è più caratteristica per i nuclei femminili, che sono travolti in continuo movimento nel corpo cellulare; accade talvolta che essi si disorientino, in seguito a qualche impulso; ma tosto assumono nuovamente la posizione di prima in cui si mantengono a lungo e specialmente quando i movimenti generali sono poco accentuati. Essi si mantengono sempre assai ravvicinati tra loro.

Si conclude dunque che esiste una forza tendente a fare orientare i fusi mitotici in direzione perpendicolare. Prima di pronunciarsi su questa forza, vogliamo escludere una possibilità la quale potrebbe facilmente venire in mente. Si potrebbe pensare che le condizioni di spazio tendessero a produrre questa orientazione, data la forma allungata dei fusi. Ma una simile supposizione non regge. In primo luogo abbiamo accennato che tra le varie misure fatte ve ne sono alcune i cui soggetti erano sensibilmente sferici; ed anzi sono tra le misure più favorevoli.¹⁾ In secondo luogo vi è un caso nel quale uno dei fusi era allungato nella direzione delle fibre, e l'altro in direzione perpendicolare; se la forma allungata dei fusi fosse la causa dell'orientamento, in questo caso l'angolo doveva essere di 0°; ed invece era di 89°; infine, nel macrogamete non potrebbe in nessun modo reggere una supposizione di limitazione di spazio o simili, giacchè i fusi natano nel plasma, muovendosi in tutti i versi, travolti dalle correnti protoplasmatiche.

Siamo perciò portati a credere che una forza agisca tra i due fusi vicini.

3. Ipotesi per spiegare le orientazioni dei fusi mitotici.

È impossibile precisare la natura di questa forza, ma possiamo ricercare le condizioni in cui essa agisce. Desidero essere completamente obbiettivo in queste interpretazioni, enunciando alcune ipotesi, riunite in due gruppi che si escludono a vicenda.

1^a ipotesi. L'orientazione perpendicolare è connessa colla

¹⁾ Il fuso, nella mitosi, è una struttura, e se è vero che l'origine della parola sta nella usuale forma a fuso, è anche vero che ormai si dice fuso mitotico, senza pensar troppo ai dettagli di questa forma, anche se essa è sferica o allungata per l'altro verso; e il dire „fibre divergenti del fuso“, per quanto una contraddizione in termini, mi par sempre il miglior modo di esprimere la cosa senza introdurre perniciosi neologismi.

omosessualità dei fusi vicini, e la orientazione sullo stesso asse, nell'ultima divisione, colla eterosessualità.

2ª ipotesi (subordinata alla prima). Esiste in ciascun fuso una carica potenziale, e di segno contrario in ciascun sesso; a queste cariche si devono i fenomeni di orientamento, per la repulsione delle cariche omonime e attrazione delle cariche eteronime (come se si avessero due sfere cogli assi carichi di elettricità positiva o negativa: se le sfere son tenute a contatto, ma girevoli, gli assi si dispongono parallelamente se le cariche sono eteronime, e come i fusi cariocinetici omosessuali, se le cariche sono omonime). Esisterebbe insomma un potenziale sessuale — il quale si formerebbe in individui che sorgono per divisione da uno privo di queste cariche (divisione sessuale); il fenomeno ricorda l'elettizzazione eteronima contemporanea di due corpi strofinati.

Di fronte a queste ipotesi, poniamo queste altre:

3ª ipotesi. L'orientazione perpendicolare dei fusi omosessuali è un fenomeno connesso colla mitosi, indipendentemente dal sesso. L'orientazione sullo stesso asse, nell'ultima divisione, ha ragioni particolari, forse connesse colla sessualità, o meglio con quel determinato momento della coniugazione.

4ª ipotesi (subordinata alla 3ª). Esistono in ciascun fuso mitotico cariche potenziali tendenti ad orientarli in direzioni perpendicolari. L'orientazione speciale dell'ultima divisione, si deve a condizioni particolari, ed è resa possibile dalla connessione intima di due poli, uno di ciascun fuso (cfr. Fig. 24).

Ed ora, è necessario qualche raffronto colle teorie dinamiche della mitosi (GALLARDO, RHUMBLER 03). Si è supposto che in essa agiscano forze newtoniane, e che nei centrosomi esistano due poli di segno contrario, rappresentando le fibre fusoriali ecc., linee di forza delle cariche. Questa ipotesi è contraddetta nettamente — per ciò che riguarda la diversità di segno dei poli situati nei centrosomi, dalle mitosi pluripolari (cfr. RHUMBLER 03), come si può subito intendere dato che queste hanno una simmetria nella quale tutti i poli (Centrosomi) si mostrano equivalenti. Ora essa è contraddetta anche dalla direzione perpendicolare dei fusi vicini in *Opercularia*; di più essa non tien conto di alcuni stadi, in cui fibre vanno dai centrosomi ai cromosomi situati in massa da parte (prima che i centrosomi abbiano assunto la posizione polare, in molte mitosi); questi stadi anzi mi pare siano stati fino ad ora poco presi in considerazione a questo proposito. Infine, essa non spiega l'allontanamento dei centro-

somi, che, siano due o più, tendono a porsi più lontani che sia possibile.

La repulsione dei fusi (orientazione perpendicolare) e questa dei centrosomi mi hanno suggerito l'idea che si tratti nella mitosi di forze newtoniane, simili alle elettriche e magnetiche, e come esse a due segni, ma con una disposizione dei poli diversa da quella finora supposta, nella quale sembrami che si sia dato troppa prevalenza al centrosoma. Due poli omonimi nei centrosomi, ed uno eteronimo nel cerchio equatoriale (specialmente dovuto a cariche dei cromosomi), posson sostituire nei riguardi delle linee di forza due poli eteronimi situati nei centrosomi; si conciliano colla presenza di mitosi pluripolari, spiegano la repulsione tra centrosomi, spiegano meglio delle altre ipotesi l'avvicinamento dei cromosomi verso i centrosomi (ed il loro distacco), rendono conto delle linee di forza tra centrosomi e cromosomi negli stadi precedenti la piastra equatoriale, ed infine fanno presumere l'orientamento in direzione perpendicolare dei fusi messi in vicinanza, come nel caso delle divisioni di maturazione dell'Opercularia. L'orientamento delle ultime divisioni, sullo stesso asse, sarebbe dovuto all'unione di due poli (appartenenti ai due fusi) in uno solo; ne deve seguire un tale orientamento, da rendere le altre parti dei fusi lontane quanto è possibile. E ciò è infatti.

Mi sembra che questa teoria, mentre prende in considerazione alcuni fatti in più delle precedenti, e specialmente questi nuovi fenomeni di orientamento da me osservati, non urti, come quella dei due poli di opposto segno nei centrosomi, nelle obiezioni portate dall'uguaglianza del loro comportamento. RUMBLER (93) ha vinto queste difficoltà, pensando a forze newtoniane che non abbiano due poli — nord e sud — come le attrazioni magnetiche; mi sembra però che la mia ipotesi non offra quelle difficoltà da cui esso è partito, e che meglio si accordi coi nuovi fatti.

Bastino questi cenni. La trattazione completa dell'argomento potrebbe farmi introdurre in questo scritto una parte altrettanto lunga quanto è esso attualmente, ed uscire completamente dal campo e dagli scopi delle presenti ricerche. La rimando perciò ad altra occasione.

Il contrasto che esisterebbe tra i nuclei eterosessuali secondo l'ipotesi 2^a andrebbe d'accordo anche con alcune ricerche citologiche, di AUERBACH, il quale avrebbe riscontrato una colorabilità antagonistica nei pronuclei maschile e femminile, di fronte a colorazioni doppie — se queste osservazioni, che sono state in parte criticate da R. HERTWIG (92) — si confermino.

Naturalmente, l'idea di un contrasto tra i due sessi, di qualunque natura esso sia, ricevrebbe invece un colpo forte quando si dimostrasse ciò che taluni hanno affermato (p. e. JICKELI 84), che si possono eccezionalmente coniugare due microgameti tra loro. Le osservazioni che sono citate a questo titolo sono però affatto superficiali, esse non riguardano per nulla la copulazione nucleare, nè dimostrano affatto che da una simile unione di microgameti sia derivato un individuo atto a vivere. Si tratta evidentemente di fusioni plasmatiche, forse in microgameti in qualche modo alterati, fenomeni insomma che non hanno alcuna importanza dal punto di vista che ci occupa, e possiamo affermare, senza tema di cadere in errore, che, dovunque vi è una differenziazione sessuale, soltanto tra i due sessi differenti è possibile la fecondazione.

VIII. Il differenziamento sessuale nella *Vorticella microstoma* (EHRBG.).

Questa specie non presenta la facilità di coltivazione della *Opercularia coarctata*, ma si presta assai per gli studi sulla coniugazione, perchè epidemie insorgono assai facilmente colle solite condizioni alimentari. Essa si presenta come è noto sotto aspetti assai vari, tanto che il FAURÉ-FREMIET (05, 2) la ha identificata con un'altra supposta specie, la *V. hians*. — Io ho fatto culture continuative, partendo da un unico individuo isolato; come alimento, il solito infuso di fieno, ma mescolato con acqua bollita, quest'ultima in discreta quantità. Soltanto nelle culture molto ricche si può senza pericolo dare un infuso assai concentrato, certamente perchè esse possono più efficacemente lottare contro l'eccessivo sviluppo batterico.

Volli verificare la questione del differenziamento dei macrogameti, osservata nella *Opercularia*. La produzione dei microgameti è nella *Vorticella microstoma* un poco più semplice, essi derivano per gemme che si staccano direttamente, ossia senza dividersi susseguentemente in due o in quattro, come nell'altra specie studiata. Però da un individuo possono derivare parecchi microgameti, successivamente.

Gli esperimenti son stati condotti collo stesso metodo, isolamento di individui comuni, più microgameti; d'altra parte isolamento di individui che stanno formando un microgamete, soli, o coll'aggiunta di altri microgameti estranei. I risultati non sono stati così costanti come nell'*Opercularia*, nel senso che la prova positiva anzichè sicura

è soltanto probabile; la prova negativa è ugualmente sicura. In altre parole, non son mai riuscito ad avere coniugazioni, adoperando individui comuni; sono riuscito ad averle servendomi di individui aventi a lato il microgamete in formazione, ma non son riuscito sempre. Ciò non costituisce alcuna differenza sostanziale, quando si consideri, che la resistenza, in questa specie, alle condizioni variate è molto inferiore che nell' *Opercularia*. La *Vorticella microstoma* offre una buona percentuale di perdite, quando si fanno esperimenti di isolamento, anche colla maggior cura; quando si trasportano individui in una piccola goccia, spesso essi si distaccano dal peduncolo, per andare a fissarsi in un altro posto; tutte cose che coll' *Opercularia* si evitano facilmente.

Anche nel caso della *Vorticella microstoma* ho osservato la divisione dei macrogameti, indipendentemente dalla coniugazione, ciò che avviene anzi assai facilmente negli esperimenti non riusciti di coniugazione. Ma in sostanza la conclusione generale che gli individui comuni non possono fungere da macrogameti, e quelli che hanno formato microgameti, sì, si mantiene rigidamente. Anche qui ho osservato che un gran numero di coniugazioni si formano — nelle culture madri — su quegli individui che hanno ancora attaccato il microgamete, ciò che è sempre conferma della stessa cosa. Certamente forme di questo genere devono essere state vedute dai più antichi osservatori, ma certamente sono state confuse con produzione successiva di microgameti. Non ne ho trovati accenni nella letteratura. Ad evitare la confusione, oltre lo studio diretto con forti ingrandimenti, vale il decorso dell' insieme, di cui ci si assicura coll' isolamento.

Un altro curioso fenomeno si riferisce ai microgameti. Mi è capitato di vedere molti microgameti attaccati reciprocamente in gruppi, come se si volessero coniugare. Però ho potuto seguire il loro destino e constatare che essi vanno a morire. Anzi, suppongo che le descrizioni date da autori specialmente antichi di eventuali possibili coniugazioni tra due microgameti, altro non siano che il risultato di osservazioni simili a questa ma più incomplete. Perché poi questi microgameti vogliano morire in compagnia, naturalmente non posso indovinarlo.

Su questa specie, che è facile tanto ad incistidarsi che a coniugarsi, ho trovato campo propizio per studiare quali condizioni producano l'uno, e quali l'altro dei due fenomeni. È noto infatti che condizioni dello stesso genere sono spesso invocate come causa di tutti e due, p. e. il digiuno da R. HERTWIG (1899), mentre altre

volte è il disseccamento che si palesa come causa dell'incistidarsi. Ricordo però a questo proposito, che una cosa non esclude l'altra; p. e. nel *Colpoda Steini*, il quale notoriamente si incistida per disseccamento, nelle mie culture si formavano cisti durature anche in seguito al solo digiuno, escluso ogni disseccamento.

Nella *Vorticella microstoma*, è il digiuno che produce le cisti e le coniugazioni; ma sono due forme particolari, differenti, di digiuno: se si pongono delle Vorticelle ben nutrite in un liquido poverissimo di alimento, si producono le cisti, raramente coniugazioni; se invece si rende rigogliosa una cultura, dandole sempre nuovo alimento, la scarsità di cibo causata non da povertà del liquido, ma dall'eccesso numerico degli Infusori, provoca coniugazioni, e non incistidamento. Si conclude perciò che la produzione delle cisti è in relazione colle condizioni chimiche del liquido, colle sostanze in esso disciolte; invece il prodursi delle coniugazioni è in rapporto col fatto in sé della mancanza di cibo — dopo alimentazione abbondante, si capisce. Quando si trasportano le Vorticelle in un ambiente povero di sostanze disciolte, allora l'incistidamento prende il sopravvento sopra alle coniugazioni, che pure possono in piccolo numero formarsi. Questo risultato, che si presenta molto netto, costante, negli esperimenti, ci rende conto del disincentidamento, nelle cisti che son poste in un ambiente liquido ricco di sostanze disciolte; è sempre una influenza chimica, in un senso o nel senso opposto; la produzione delle coniugazioni, ha come si vede un meccanismo ben diverso.

Di quali sostanze disciolte si tratti, è facile capirlo, pensando che gli infusi i quali hanno l'influenza di impedire l'incistidamento o di farlo cessare, sono infusi ricchi su cui può vegetare una microflora ed una microfauna abbondante; si tratta dunque di quelle sostanze — senza precisarne la natura chimica — che son capaci di nutrire le vittime dei pasti delle nostre Vorticelle.

Il fatto che generalmente negli ambienti culturali si sovrappongano le due condizioni, di ricchezza di queste sostanze disciolte, e ricchezza di microflora e microfauna, — o reciprocamente povertà dell'una e dell'altra delle due condizioni, spiega come spesso ci si trovi impacciati a capire la ragione per cui si produce incistidamento o coniugazioni, in casi apparentemente simili. Non voglio però con questo generalizzare affatto questo concetto, giacché è noto che l'incistidamento ha svariate cause determinanti, e tra queste, p. e., sta anche la temperatura, come ha mostrato R. HERTWIG per il *Dileptus gigas*, (04) e SMITH per l'*Actinosphaerium Eichhorni*.

IX. Il differenziamento sessuale nel *Carchesium polypinum* (ENRIG.).

Come in altro punto ho accennato, gli esperimenti che ho fatto con questa specie non mi hanno condotto a risultati definitivi. L'impossibilità di trovarla adesso nelle vicinanze di Bologna mi fa rimandare ad un'epoca indeterminata il completamento di questo studio, e mi spinge a riferire le osservazioni che ho fatto fin qui, e che pure ad alcune conclusioni conducono. Lo scopo della ricerca era ancora quello di determinare se, come avevo riscontrato nell'*Opercularia coarctata*, e come trovai poi anche nella *Vorticella microstoma*, esista nel *Carchesium* pure una „divisione sessuale“. Le difficoltà di allevamento non mi hanno permesso negli esperimenti fatti, di servirmi di una cultura continuativa, nè derivata da un individuo isolato. Cominciai a trovare microgameti in rami di *Carchesium*, il 17. 4. 06. Siccome io mi aspettavo di trovare le coniugazioni in questi stessi rami, in vicinanza dei microgameti, osservai attentamente ed a più riprese; ma senza nessun risultato positivo; chè anzi, trovai parecchie coniugazioni in altri rami, dove non erano microgameti; allora isolai alcuni rami con microgameti, e li osservai per tutta una giornata; i microgameti si staccarono, girarono attorno agli altri individui, ma non entrarono in coniugazione. Contemporaneamente, unii un ramo con microgameti, ed uno contenente una coniugazione. Dopo meno di un'ora, essendosi staccati alcuni microgameti, osservai una coniugazione di più nel ramo che ne aveva prima una. E questo fu tutto il risultato.

Il 24. 4. 06, ad ore 15, isolo un ramo di circa 50 individui, in cui sono due gruppi di microgameti, ed uno in formazione, in rametti differenti, ed insieme ad esso pongo un altro rametto, di 20 individui, con una coniugazione. Il 25 a ore 8, il rametto di 20 ne ha 33, con 6 coniugazioni, una delle quali con due microgameti; il ramo di 50 non ha più microgameti, ma nemmeno coniugazioni. Fino ad ore 21, nulla di mutato, tranne l'aumento numerico degli individui; alle 21 le coniugazioni non sono ancora terminate, e nel ramo che aveva ieri microgameti, vi è un gruppo di piccoli individui, dall'aspetto caratteristico che precede la formazione dei microgameti. Il 26 ad ore 8,30 vi sono parecchi microgameti in giro, ed ancora uno nel ramo che fino allora era stato maschile. Nell'altro ramo le coniugazioni sono finite e non ve ne sono di nuove. I rami principali vanno poi accidentalmente perduti. Si seguitano le osserva-

zioni coi ramettini che si erano formati nel frattempo, da individui che si erano staccati dai rami, ed attaccati al vetrino. Alle ore 10 noto un individuo fisso al vetro e non ancora ramificato, cui un microgamete si accosta: alle ore 12,30 esso è in coniugazione. Nulla di interessante fino al 1° Maggio; in questo giorno ci sono molti ramettini, alcuni neutri, altri esclusivamente maschi, altri esclusivamente femmine. Hanno questi, microgameti o coniugazioni, rispettivamente, in più posti. Se ne isolano alcuni, dei quali nessuno nei giorni successivi cambiò sesso, ma nessuno ebbe anche vita più lunga di due o tre giorni in buone condizioni. Anche la cultura principale d'esperimento verso il 9. 5 cominciò a deperire.

Ripetuti molte volte questi esperimenti, ebbi sempre uguali risultati, constatando che erano sempre unisessuali rami piccoli o grandi fino a contenere alcune centinaia di individui; e dico rami, nel senso, ben si capisce, che si tratta di gruppi derivati ciascuno da un solo individuo. Una sola volta mi accadde di trovare una coniugazione in un ramo isolato il giorno precedente, con 2 gruppi di microgameti in formazione e circa 50 individui. Il valore di questa eccezione, che ho riferito per scrupolo di coscienza, non saprei affatto definirlo; essendo un caso solo, di fronte a molte decine di isolamenti e centinaia di rami sempre constatati unisessuali, mi è anche sorto il dubbio che si sia trattato di qualche errore di osservazione.

Quanto alla interpretazione delle cose vedute, evidentemente esse non dicono niente riguardo alla soluzione del problema proposto. Esse esprimono però qualche cosa di sicuro, rispetto alla differenziazione sessuale nel *Carchesium*, dicono che nelle colonie esistono rami maschili, rami femminili e rami neutri. Solo una volta parve, se non fu un errore, che un ramo maschile si trasformasse in ramo femminile. Con ciò si viene a dire che certamente i microgameti non son così legati da parentela coi macrogameti, come nell'*Opercularia coarctata* e nella *Vorticella microstoma*. Se una divisione sessuale esiste, nel senso che abbiamo dato a questa espressione, essa deve essere molto precoce; quando un individuo si fissa e proliferando forma un ricco ramo, dovrebbe già essere differenziato in un sesso, ciò che si accorderebbe col fatto di aver trovato individui appena fissati, e non divisi, già in coniugazione con microgameti estranei; ma non con quanto abbiamo osservato nelle altre specie studiate, che un macrogamete, qualora non si coniughi, torna nentto, ossia capace di dividersi sessualmente un'altra volta, esso od i suoi discendenti. Qui, dove abbiamo rami che

sono maschili o femminili, soltanto in quanto contengono alcuni individui così differenziati, non possiamo ritenere che tutti gli altri lo siano di necessità — gli altri, che seguitano a dividersi, e possono, distaccandosi dal ramo, formare nuove colonie. D'altra parte il differenziamento di un intero ramo in un sesso mal si intenderebbe senza supporre che fosse già differenziato l'individuo che gli ha dato origine. Si che saremmo tentati di supporre che il differenziamento sessuale si intrecci in modo assai complesso colla possibilità di perdere le caratteristiche di questo differenziamento.

Come conclusione di fatto, ci contentiamo di affermare che un ramo anche grosso, derivato da un individuo, non contiene mai contemporaneamente micro e macrogameti, sebbene i macrogameti anche qui non siano distinguibili dagli individui comuni.

Evidentemente non a differenze di condizioni esterne subite si può attribuire questo fatto, perchè in una grossa colonia, dove ciascun ramo ha un sesso solo, è impossibile ammettere che gli individui dei rami vicini abbiano subito condizioni più differenti di quelle dei singoli individui di un sol ramo.

Per quanto ho potuto trovare nella letteratura, è solo il PLATE (88) che ha fatto qualche osservazione del genere in un Vorticellide coloniale (*Lagenophrys*) nel quale ha visto molti rami che pareva fossero dedicati solo a fornire microgameti, ed altri nei quali osservava coniugazioni; ma naturalmente queste osservazioni hanno un valore limitatissimo, dato che non sono controllate coll' esperimento; di più devonsi anche avere dei dubbi quanto al riconoscimento delle forme, perchè l'A. ha talora evidentemente preso stadi della coniugazione, per stadi di formazione dei microgameti; infatti descrive la formazione dei microgameti con frammentazione del macronucleo, la quale corrisponde esattamente a quanto si sa oggi avvenire nella coniugazione.

X. La degenerazione senile.

La questione della degenerazione senile degli Infusori, la quale ha una importanza grande di fronte ai problemi della biologia generale, voglio trattare qui un poco più estesamente di quanto abbia fatto fino ad ora nelle mie precedenti note, che avevano un carattere essenzialmente sperimentale; e mi propongo di far ciò.

perchè ritengo colle presenti ricerche la questione sia definitivamente esaurita.

Il concetto dell'invecchiamento degli Infusori si basa principalmente sui classici esperimenti del MAUPAS, il quale non ha potuto coltivare questi Protozoi in piccole culture (ove non si osservavano coniugazioni) a lungo, indefinitamente; fenomeni degenerativi sopraggiungevano dopo alcune centinaia di generazioni. L'idea ha incontrato molto nel mondo scientifico, perchè si accordava colle nostre conoscenze sulla morte negli organismi superiori. In altro articolo (ENRIQUES 07, 2) ho illustrato come la necessità della morte si sia probabilmente sviluppata in conseguenza o in accordo con altre due condizioni: differenziamento morfologico e, condizione prima, diminuzione delle capacità assimilatrici. Il concetto della morte non si deve estendere per il solo desiderio di estenderlo — dagli organismi superiori ai Protisti — se non è dimostrato in questi ultimi direttamente. Quanto alla dimostrazione data dal MAUPAS, io oppongo i seguenti fatti:

1° Culture derivate da un solo individuo Infusorio possono mantenersi in buone condizioni per centinaia e centinaia di generazioni, purchè siano osservate alcune norme tecniche (ENRIQUES 05) — all'infuori di coniugazioni o di azioni stimolanti.

2° Mancanza di attitudine alla scissione, degenerazione e morte della cultura si osserva dopo pochissime generazioni, nelle culture nelle quali si sia coscientemente aumentata la quantità dei batteri e dei loro prodotti — soprattutto dei questi — (ENRIQUES 03, 05). Le degenerazioni che in tal caso si producono sono esattamente uguali a quelle descritte dal MAUPAS, e siccome nelle culture di questo sperimentatore non era sufficientemente provveduto al cambiamento del liquido, ne segue che a questo fatto — fonte di eccessivo sviluppo batterico, si deve attribuire il fenomeno della degenerazione da lui riscontrato.

3° La coniugazione non si produce soltanto dopo lunga serie di generazioni agame, la quale abbia prodotto una maturità sessuale e la necessità del ringiovanimento. Essa si può produrre anche dopo pochissime generazioni. Questa conclusione che risulta dalle presenti ricerche, è l'ultimo colpo alla teoria della degenerazione senile.

4° Per determinare la coniugazione in una cultura, occorrono condizioni particolari, ma esclusivamente

condizioni di ambiente, tra le quali prima di tutte quella del digiuno dopo ricca alimentazione, come è stato chiaramente messo in evidenza dalle ricerche del MAUPAS, e di altri. Però dagli esperimenti che io ho fatto qualche cosa di più è risultato, in quanto sempre nuove condizioni appaiono, come determinanti o necessarie, sempre nuove condizioni, ma puramente esterne. Così quella, nel *Colpoda Steini*, della necessità di trovarsi gli Infusori in uno strato verticalmente sottile; solo in questa condizione si possono coniugare.

Quanto a ciò che è detto nel numero 3, il BÜTSCHLI (76), nelle sue ben note ricerche sulla coniugazione degli Infusori, aveva già ottenuto coniugazioni dopo alcuni giorni che in un vetrino eran stati dei Parameci exconiuganti; esperimenti che però non valsero ad impedire che il MAUPAS elaborasse e il mondo scientifico accettasse il concetto della preparazione attraverso a molte generazioni agame, alla maturazione sessuale. Non molto più dunque varranno le analoghe ricerche di JOUKOWSKY fatte nello stesso modo sugli stessi Infusori. Le mie ne differiscono in due punti, sia in quanto esse si riferiscono a parecchie specie di Infusori, appartenenti a gruppi molto differenti, sia perchè è da questi esperimenti risultato che esattamente le stesse condizioni che producono l'epidemia di coniugazioni in grande, la producono in piccolo, nei pochi e prossimi discendenti da pochi exconiuganti o da uno solo; mentre altrimenti coniugazioni non si producono. Per ogni verso dunque vediamo che solo le condizioni esterne sono capaci di indurre gli Infusori in coniugazione, essendo a questo riguardo indifferente che molte o poche generazioni li separino dalle coniugazioni precedenti, o che essi siano o no tra loro prossimi parenti.

Dobbiamo ora prendere in considerazione parecchi fatti e parecchie idee che sull'argomento sono state emesse, onde vedere come si accordino coi nostri risultati, e se in altre ricerche si trovino ostacoli all'accettazione delle nostre conclusioni.

BALBIANI (1891), confermato poi da JOHNSON, ha fatto l'interessante osservazione che lo *Stentor caeruleus* presenta un fenomeno di periodica atrofia e rigenerazione, in varie porzioni del suo corpo: durante queste rigenerazioni il macronucleo subisce modificazioni come all'inizio della scissione; l'A. crede che questo fenomeno serva a compensare l'usura che si produce nel funzionamento dell'Infusorio, come accade p. e. nei Parameci, i quali rigenerano parti al momento della coniugazione. Si avrebbe insomma qui, se non erro nell'inter-

pretare il pensiero dell'autore, nn ringiovanimento parziale, che verrebbe paragonato a quello più profondo dovuto alla coniugazione, e che sarebbe richiesto da condizioni dello stesso genere. Che nn consumo di determinati organi in determinati organismi possa aver luogo e richieda nn rifacimento periodico, non lo contrasto. Io credo però che questi fenomeni, entro certi limiti diffusi nel regno animale, abbiano nulla a che fare colla coniugazione, perchè appunto la facoltà di riparare le perdite esiste nell'organismo anche indipendentemente da essa. Le osservazioni di BALBIANI ci dimostrano proprio questo in maniera molto elegante. Dello stesso genere di queste osservazioni sono anche quelle di WALLENGREN, per le quali molti organelli sono stati visti formarsi di nuovo nei Ciliati, negli individui appena nati per scissione; però la cosa si presta bene alla spiegazione dell'A., del tutto diversa che nei casi precedenti, per la quale la neoformazione sarebbe nna necessità dati i rapporti di grandezza anormali tra gli organelli antichi ed il corpo dell' Infusorio nuovo.

Le perdite nella coniugazione, ed in special modo la distruzione del macronucleo, sono prese da alcuni in considerazione, per dire che i Protozoi non sono immortali, venendo in queste parti che si distruggono rappresentato il soma dei pluricellulari. P. e. così dice HICKSON, 01. Non desidero per nulla di entrare qui a discutere questa lunghissima questione di parole, dell'immortalità dei Protozoi, ma soltanto osservo che la questione è tolta, per ciò che riguarda la supposta distruzione della parte somatica, dal momento in cui è dimostrata la coniugazione non essere necessaria per la propagazione e conservazione della specie.

Un posto speciale in questa discussione meritano le ricerche di CALKINS e quelle di R. HERTWIG. Quanto alle prime, io credo che l'A. nei successivi lavori sempre più si discosti dalla teoria classica della degenerazione senile; in ogni modo posso osservare che i suoi esperimenti, mediante i quali esso ha potuto per molte generazioni mantenere in vita culture di Parameci a patto di assoggettarli di quando in quando a stimoli chimici od altri, non offrono per nulla la possibilità di attribuire il risultato ad una specie di partenogenesi artificiale, come vorrebbe l'autore. Egli è in ciò guidato evidentemente dal concetto che le degenerazioni — depressioni — osservate nelle sue culture siano dipendenti dalla mancata coniugazione; ma ciò non è pnto di per sè evidente, tanto più che egli non ha colla coniugazione rimediato alla depressione; ora è evidente che di partenogenesi si potrebbe trattare soltanto quando gli Infusori

depressi fossero realmente pronti alla coniugazione; e si ristabilissero senza di questa, per l'influenza di certi stimoli. Ora, non solo ciò non risulta punto dalle ricerche che l'A. ha fatto, ma risulta adesso dalle mie, che le degenerazioni osservate nelle culture derivano da azioni nocive, batteriche, come già altri autori le hanno potute produrre per azione di campi magnetici, in poche ore (CHÉNEVEAU e BOHN, GRENET). Gli stimoli, che il CALKINS fa agire, finiscono nelle sue ricerche per acquistare sempre una importanza maggiore rispetto alla coniugazione, alla quale egli nel 1902 già vuol negare l'efficacia ringiovanente, che attribuisce invece agli stimoli.

Essi occupano un posto simile anche nelle ricerche del WOODRUFF fatte su altre specie di Infusori, ma con simile indirizzo generale. Ma quale può essere l'effetto di questi stimoli? Essi consistono in cambiamenti di ambiente o di condizioni fisiche, capaci benissimo di modificare lo sviluppo dei Batteri, o di indurre nei Parameci realmente una maggior forza per reagire a quelle condizioni sfavorevoli che nelle culture si erano palesate col fenomeno della diminuzione di attitudine riproduttrice. La possibilità di tali azioni nocive non era dal CALKINS evitata, giacchè risulta dalle mie ricerche che essa si può, alla lunga, evitare solamente quando tutti i giorni si muti il liquido alimentare agli Infusori coltivati, dando ad essi ogni volta un infuso che si trovi nelle stesse identiche condizioni di tutti i precedenti, essendo cioè preparato di fresco — uno o due giorni prima, o magari nel giorno stesso.

Di più, sta il fatto che l'A. ha concluso colla morte dei suoi Parameci (04), nonostante le azioni stimolanti. E siccome dalle sue ricerche deduce che la coniugazione non ha effetto di ringiovanimento, ne segue che quei Parameci vengono ad essere considerati come inevitabilmente destinati a morire, a non propagare la specie oltre i limiti d'esperimento dell'A. Ciò costituisce una conclusione evidentemente assurda, onde non giusta è l'interpretazione degli esperimenti. La cosa mi sembra di una evidenza indiscutibile.

A conferma del mio modo di interpretare i risultati di CALKINS, vi è però ancora un altro fatto, ugualmente decisivo quanto quello testè citato.

Nelle ricerche fatte da lui con LIEB (02), mentre gli Infusori che son stati sottoposti agli stimoli, si sono mantenuti in vita, quelli che son stati alimentati sempre con infuso di fieno, son morti, dopo 69, 135, 164 generazioni, ecc.; cioè dopo numeri di generazioni piccolissimi, rispetto anche alla teoria del МАУРА; numeri che sono stati più volte superati senza nessuna difficoltà da vari autori, p. e.

dal MAUPAS stesso. In conclusione, questi risultati mostrano che la tecnica adoperata in queste ricerche non è stata abbastanza scrupolosa per lo scopo.

Più si accostava alla verità il KULAGIN, nel ritenere che le degenerazioni, anziché senili, siano dovute ad una intossicazione, basandosi sul fatto che Infusori in via di degenerare migliorano e guariscono se portati nell'acqua pura. Però l'A. pensava ad una autointossicazione, ciò che è risultato infondato per i miei esperimenti, sia quelli nei quali ho mostrato l'influenza degli infusi più o meno vecchi (1905) sia e più dai primi esperimenti (03) nei quali ponevo uno o più Infusori in piccole gocce di un infuso riccamente batterico; osservavo la degenerazione tanto più facilmente quanto più scarsi erano gli Infusori in numero, o più grande la goccia — ciò contro quello che accadrebbe per una autointossicazione, ed in favore dell'idea che siano i Batteri la causa della degenerazione: se gli Infusori son numerosi, lottano più energicamente mangiando i Batteri, e forse anche per altre vie, impedendo insomma almeno l'ulteriore sviluppo di quella microflora.

La „degenerazione fisiologica“ descritta da HERTWIG nell'*Actinosphaerium*, sarebbe la conseguenza di condizioni esterne, anziché interne, come la degenerazione descritta dal MAUPAS e creduta senile. Questa di R. HERTWIG, sarebbe indipendente dal numero delle generazioni per scissione che son trascorse dalla coniugazione precedente, ciò che non esclude un rapporto colla coniugazione, nel senso che questa può essere una delle vie di ricostituzione delle capacità normali, fisiologiche, degli animali; conclusione questa a cui, veramente, l'A. arriva molto più per induzione teorica che per gli esperimenti fatti. Questi hanno dimostrato che gli Actinosferi sottoposti ad un regime di alimentazione eccessiva vanno incontro ad una degenerazione, che si manifesta coll'ingrossamento dei nuclei ed il loro disfacimento in cromidi. In varie pubblicazioni l'A. mette in evidenza l'importanza che ha questo comportamento di fronte al normale funzionamento dell'Actinosferio. E per assicurarsi che i nuclei giganti non derivino da una infezione, egli ha fatto l'esperimento seguente: presi alcuni individui ancora sani da una cultura dove erano anche dei malati, e messi in acqua pura, essi hanno avuto la stessa sorte degli altri, andando incontro alla formazione dei nuclei giganti ed alla morte; di più, uniti degli Actinosferi normali e che non erano stati iperalimentati, con altri che avevano nuclei giganti, mentre questi ultimi in alcune settimane sono morti, i primi sono rimasti in vita e normali, senza formazione di nuclei

giganti. Gli esperimenti dimostrano che questa particolarità dei nuclei e la conseguente morte non sono causati da una infezione. La conclusione sembra anche a me giusta; ma non mi sembra però giusta la conclusione ulteriore, che la degenerazione sia dunque conseguenza del fatto di essere gli Actinosferi alimentati eccessivamente. In che cosa consiste l'alimentazione eccessiva, ossia le condizioni che la permettono? Si tratta di dare a questi Protozoi altri Protozoi, in abbondanza; si tratta di nutrire un numero considerevole di *Stentor* agli Actinosferi; ora, chi assicura che la presenza di questi organismi, di cui quelli si cibano, non produca una intossicazione degli Actinosferi? Vediamo in primo luogo se gli esperimenti di HERTWIG tolgano questa possibilità, poi esamineremo la probabilità che essa ha. Quando gli Actinosferi malati sono nuniti ad altri sani, si capisce che la intossicazione supposta nei malati non debba necessariamente attaccarsi, influire sui sani. L'esperimento esclude la presenza di un germe infettivo, ma non la presenza di un'azione dannosa tossica, precedentemente subita dagli Actinosferi a nuclei giganti. L'altro esperimento, del mettere Actinosferi apparentemente sani, ma trovati insieme a dei malati, nell'acqua pura, non dimostra nemmeno che essi siano privi di un germe infettivo, dal momento che essi muoiono; esso potrebbe esservi contenuto e svilupparsi poi a suo agio durante la vita nell'acqua pura, nello stesso modo che si ammalano di colera o di peste in paesi dove queste malattie non esistono, molti che scappano da un posto al momento dell'epidemia; essi parevano sani — come gli Actinosferi — ma avevano il germe della malattia in loro. Ma non monta: la presenza di un'infezione è già esclusa dall'esperimento di sopra. Però anche questo di cui ora trattiamo, non dimostra che l'azione produttrice la morte sia l'iperalimentazione. Siamo in presenza di individui i quali dobbiamo credere sarebbero morti rimanendo nell'ambiente ove erano iperalimentati; e che son morti ugualmente, sebbene tolti di là quando parevano ancora normali. Erano essi normali? Evidentemente no, giacchè son morti nell'acqua pura; nè HERTWIG crede che fossero normali, sia in base all'esperimento, sia in base al fatto che essi avevano subito l'azione della iperalimentazione, che aveva ammalato i compagni. Essi dunque sembravano normali, ma avevano in sé tutte le condizioni atte a svolgere quella particolarità dell'ingrossamento dei nuclei, a cui segue la morte. Si conclude dunque che nell'ambiente dove gli Actinosferi vengono iperalimentati, essi subiscono un'azione che resta nascosta all'osservatore anche fino ad un punto a partire dal quale la vita degli animali è già compromessa,

in qualunque condizione poi essi si vengano a trovare. Questa conclusione è lecita, ma solo questa. Decidere che questa azione dannosa dipenda dal fatto di aver mangiato troppo, è arbitrario; modificazioni dovute a questo fatto possono altrettanto bene seguitare ad agire negli individui che vengano poi tolti dal mangiar molto, quanto modificazioni dovute a tossine possono seguitare a svolgersi anche dopo tolti gli animali dall'azione tossica. Il veleno era già assorbito, e li ha ammazzati lentamente poi. Quante volte l'esperienza medica insegna che i veleni assorbiti dall'organismo, lentamente accumulati magari in organi ghiandolari speciali, proseguono poi ad agire (anche evitando un nuovo assorbimento di veleno) compromettendo la salute molto più che nel periodo in cui l'uomo era in atto soggetto all'azione esterna del veleno! E che dire dei sieri, i quali iniettati nel sangue producono azioni tardive, perfino dopo mesi, e forse anni? L'esperimento di HEATWIG non esclude perciò affatto la tossicità dell'ambiente in cui i nuclei giganti si formano, in cui si produce la così detta „degenerazione fisiologica“, attribuita al mangiar molto.

E non è punto strano supporre che la presenza di molti *Stentor* prodcesse un ambiente in qualche modo dannoso, tossico per gli Actinosferi. Non vediamo forse ogni giorno gli organismi lottare con ogni mezzo per assicurarsi il possesso del cibo? Una cultura per quanto rigogliosa di *Stylonichia pustulata*, quando vi vengano aggiunti alcuni individui di *Glaucoma scintillans*, si trasforma spesso in una cultura di *Glaucoma*, senza che più si veda nemmeno una *Stilonichia*; né i *Glaucomi*, tanto più piccoli, mangiano le *Stilonichie*; tutti gli esperimenti i quali dimostrano la tossicità dei Batteri sopra ai Protozoi, sono sempre l'espressione di una legge generale medesima. Il ritenere che l'aggiunta di una quantità cospicua di *Stentor* sia innocua per gli Actinosferi, è supposizione arbitraria, per la quale bisogna trascurare il ricordo della lotta per l'esistenza, bisogna dimenticare che, come gli Actinosferi lottano contro gli *Stentor* per mangiarli, questi lotteranno contro gli Actinosferi per non esser mangiati. Di più, oltre gli *Stentor* saranno presenti anche altri organismi, di cui gli *Stentor* si devono cibare, ed a questi pure può esser riservata una parte, nella complicata lotta per la conservazione della vita, dentro la cultura dell'illustre zoologo di München. Con tutto il rispetto dunque per le sue ricerche, dalle quali spesso scaturiscono fatti importanti, che in parte abbiamo anche in questo scritto ricordati, e con tutto il rispetto per la sua insigne attitudine

a cavare dalle cose la sintesi, i concetti generali, — devo affermare nel modo più reciso, che la così detta „degenerazione fisiologica“ degli Actinosferi, ha tutti i caratteri di una degenerazione patologica, per le condizioni in cui si produce.

Nella questione della possibilità di avere coniugazioni con individui che poche generazioni prima erano stati in coniugazione, evidentemente i risultati positivi da me ottenuti tolgono qualsiasi dubbio, anche di fronte ad altre ricerche che portavano alla conclusione opposta, p. e. quelle del SIMPSON; se a lui non è riuscito l'esperimento, ciò vuol dire che non gli è riuscito di porre i suoi Infusori nelle condizioni adatte; nè è ciò strano, date le difficoltà che ci sono nella cosa. Più notevoli sono tra i suoi risultati quelli relativi alla divisione, che ha trovato compiersi negli exconiuganti e prossimi discendenti, come negli individui normali.

Insomma le speranze che R. Hertwig (02) esprimeva relativamente agli Infusori come buon terreno di studio per le differenze che passino tra individui da poco coniugatisi, sembra non abbiano più affatto luogo di esistere, in quanto solo le condizioni esterne decidono se una nuova coniugazione deve intervenire o no, non il tempo, brevissimo o lunghissimo, decorso dalla coniugazione precedente. Quelle speranze, una delle conseguenze dell'idea della degenerazione senile, devono dar luogo alla constatazione della inesistenza di differenze funzionali a questo riguardo, quindi, senza dubbio, della inesistenza anche di differenze morfologiche, non appena gli Infusori che si considerino abbiano terminato quella serie di modificazioni cui la coniugazione dà luogo.

La conclusione generale che noi ricaviamo da tutte queste considerazioni, riguardo alla biologia dei Protozoi, e degli Infusori in particolare — è che la attitudine a dividersi e così propagare la specie, si mostra negli esperimenti, indefinita, senza necessità nè di coniugazione, nè di stimoli, nè di limitare l'appetito, purchè le condizioni della cultura evitino con sicurezza le azioni dannose dovute ad altri organismi. È nostro compito, nello studio di questi fenomeni, di tenere sopra tutto presente la lotta per l'esistenza, in tutte le sue forme, ed acquistare la sicurezza che essa non intervenga a danno della specie presa in considerazione; ciò facendo, non si arriva a vedere il termine della capacità di propagazione per scissione; ma basta dimenticare questo importante fattore un momento

solo, anche parzialmente, perchè una catastrofe divenga — colla massima probabilità — irrimediabile. Come già ho detto nelle mie note precedenti, da ciò non segue logicamente che gli Infusori, o qualunque altro organismo, possa propagarsi in eterno per scissione — come ciò non è dimostrato che possa avvenire anche dato che intervergano coniugazioni. Le mie ricerche e ragionamenti annullano la portata di quelle fatte dagli altri autori per dimostrare la estinguibilità della razza quando si mantengano gli Infusori in condizioni sempre uguali e si impedisca la coniugazione. Non più di così è possibile fare: un'affermazione per l'eternità, esce dai limiti della conoscenza umana. Noi però possiamo affermare: avvengano le coniugazioni, o gli Infusori siano coltivati all'in-fuori di esse, abbiamo le stesse prove della loro attitudine a propagarsi indefinitamente.

XI. A che serve la fecondazione?

Ma se la coniugazione non serve a impedire la degenerazione senile, perchè non una „degenerazione senile“ non esiste, nè una „degenerazione fisiologica“ di qualunque tipo, se insomma non serve a regolare o compensare i fenomeni della vita organica — come vorrebbe R. HERTWIG, in base al concetto della degenerazione per abbondante alimentazione — a che cosa serve l'unione di due masse nucleari, che è forse un fenomeno diffuso dappertutto negli organismi viventi? Quel che ci appare come più strano è appunto la esistenza di una funzione così generalizzata, di cui poi la mancanza procurata artificialmente, con speciali condizioni di vita, non dà segni alcuni di procurare inconvenienti. Stabilito nettamente questo ultimo concetto, come risulta dalle ricerche che siamo andati facendo in questi ultimi anni, esso deve essere necessariamente uno dei capisaldi, nella interpretazione dei fenomeni di congiungimento nucleare, mentre da un lato toglie la possibilità di una quantità di teorie, basate sopra alla credenza opposta. Anche la mancanza di una maggior prolificità dopo la coniugazione, o di una prolificità minore prima, è stata dimostrata sperimentalmente dal MAUPAS, e giustamente presa in considerazione da R. HERTWIG (02). Questi si oppone anche al concetto di BÜTSCHLI del ringiovanimento, in base a questi caratteri manifestati dalla prolificità in rapporto alla coniugazione, e perchè

non potrebbe spiegarsi il bisogno di un ringiovanimento nella cellula novo, che appare come più giovane, rispetto alle altre del corpo.

Ed anche giustamente osserva (00) che la fecondazione è collegata con una forma di propagazione nei pluricellulari, ma non nei Protozoi, dove l'unica forma di propagazione è la divisione.

La teoria che l'amfimixi sia fonte di variabilità, ed in questo consista il suo significato, è da troppe parti combattuta, perchè io qui voglia estendermi a discuterla; accenno soltanto che da un punto di vista aprioristico non si intuisce come possa la mescolanza di due nuclei produrne uno che devii dal tipo medio più di ciascuno dei due; ed a posteriori l'esperienza quotidiana dimostra come i figli abbiano caratteri intermedi tra i genitori; chè se ne sono diversi, ciò accade anche di quelli nati partenogeneticamente; e le differenze massime si incontrano negli ibridi, la cui deviazione dalle proprietà dei genitori rappresenta non un fattore di variabilità, ma di fissità, ricordando essi nei loro caratteri, forme ancestrali meno differenziate.

Siamo entrati in questa discussione, perchè la esperienza acquistata cogli Infusori ci ha posto, come dicevo, dinanzi ad un punto di partenza ben netto. I fatti che a tutti sono noti permettono di pensare che in generale la unione dei gameti porti ad una mescolanza di caratteri, e quindi contribuisca a mantenere la fissità dei caratteri specifici. Vi è forse una utilità in ciò? È questo che ci si palesa chiaro in base all'esperienza acquistata. Enunciamo questa proposizione: l'esistenza di limiti ristretti di variazione, nella specie, è condizione indispensabile per la conservazione dei suoi individui e discendenti. Ed ora vediamo come siamo giunti a questo concetto. Le culture che permettono agli Infusori di propagarsi indefinitamente — senza coniugazioni né stimoli — li mantengono anche in limiti ristretti di variabilità, nell'aspetto generale, grandezza ecc., come ci dimostra l'osservazione diretta, in confronto con quelli della stessa specie che menano vita più libera dalle mani dello sperimentatore; ed in queste condizioni non si manifesta né la necessità della coniugazione per la conservazione della vita, né l'attitudine alla coniugazione — la maturità sessuale. Questa attitudine, dalla quale derivano le epidemie di coniugazioni, si palesa in condizioni che offrono una grande ricchezza di forme individuali varie, per grandezza, aspetto generale ecc.; essa deriva anzi da una variazione di condizioni, assai determinata, e consistente essenzialmente in una modificazione della quantità di alimento. Si accompagna sempre con una prolificità grande, sia per

la abbondanza di nutrimento prima, sia anche nella penuria di cibo che precede immediatamente la comparsa dell'epidemia. La coniugazione insomma non compare in condizioni di fissità di ambiente esterno — e di forme individuali —, compare in determinate condizioni di variazioni esterne — accompagnate da variabilità di forme individuali. Il concetto che essa abbia un'ufficio nello stabilire una certa media tra le varie forme sorge spontaneamente da ciò; e se osserviamo che negli Infusori ove non si riscontra un differenziamento sessuale vero e proprio, pure è facile vedere quanto siano diversi i gameti che si uniscono tra loro, l'idea prelude maggior consistenza. — Quando noi facciamo degli allevamenti in condizioni fisse e permettenti la propagazione indefinita, senza coniugazione, poniamo al riparo i nostri Infusori da quelle variazioni di ambiente, le quali, producendo cospicue variazioni, anche negli Infusori, portano alla coniugazione — che qui si palesa come elemento allivellatore. Quale poi sia in ultima analisi il giovamento che le specie traggono da questo allivellamento, è facile supporlo, osservando come ciascuna specie operi compatta nella lotta per l'esistenza, vincendo con forze meccaniche o chimiche le difficoltà dell'ambiente e gli ostacoli frapposti allo sviluppo, dagli altri organismi. Solo operando in maniera concorde — specialmente dal punto di vista chimico — è possibile la vittoria, secondo il vecchio adagio: „l'unione fa la forza“.

Questo modo di considerare le cose mi sembra che, senza forzare i fatti, accordi quei fenomeni così in apparenza contraddittori, quali sono la generale diffusione del processo coniugativo, nelle sue più varie forme, e d'altra parte la non necessità di esso per la conservazione della specie. L'unione sessuale, elemento allivellatore, è un fattore di lotta. Eliminando od attenuando il bisogno di lottare, la coniugazione nè si produce, nè vi è bisogno che si produca. Naturalmente le condizioni in cui il processo fecondativo si palesa nei pluricellulari, sono derivate in seguito al processo evolutivo da questi così semplici che si verificano nei Protisti; nè è da meravigliarsi che questo elemento — potenzialmente non necessario nei Protisti — sia divenuto necessario nella maggior parte dei pluricellulari, ed anche in alcuni unicellulari, massime parassiti, giacchè di fronte alla potenziale non necessità, che è dipendente da una riduzione della lotta per l'esistenza, sta sempre nel fatto una lotta intensa, e quindi il bisogno e l'opera del processo copulativo.

Onde non appaia che questa variabilità cui si accenna sia immaginaria, citerò le osservazioni del SIMPSON, da cui risulta (02) che i fratelli gemelli nati dalla divisione di un Paramecio o di una

Stilonichia, non sono uguali tra loro; si può constatare che hanno piccole differenze di costituzione.

E negli esperimenti di ENTZ (03) sulla variabilità negli Infusori, è apparso chiaro all'autore, che essa dipenda dalle condizioni esterne.

Collo svolgimento di questo concetto, naturalmente veniamo a rifiutare le altre idee espresse in proposito. Quella di WEISMANN in primo luogo per le ragioni già accennate; quella di BÜTSCHLI del ringiovanimento, criticata del resto anche da altri che pur partivano dell'idea di un ufficio in qualche modo compensatore, della coniugazione; tra questi R. HERTWIG (cfr. 02) per aver dimostrato che gli excopulanti si dividono meno degli individui comuni; e la teoria di HERTWIG stesso, il quale pensa che la fecondazione rinforzi i poteri regolatori, e quindi sia tanto più necessaria, quanto più alta è l'organizzazione e quanto più attiva è la vita. Il punto di partenza, come si vede, è sempre quello degli esperimenti sull'*Actinosphaerium*, i quali abbiamo creduto di dovere interpretare del tutto diversamente dall'A. stesso.

In che cosa consistono questi poteri regolatori, è ben chiaro dalle sintetiche discussioni che si trovano in molti altri lavori dell'A. Per attenerci ad uno dei più recenti (05), egli sostiene che il rapporto tra nucleo e citoplasma — oltre che per le diverse condizioni di ambiente, — vari anche per il solo fatto di una lunga serie di divisioni agame. Il nucleo anmenta a spese del plasma, quando si palesa la depressione nelle culture di *Actinosphaerium Eichhorni*; questo disturbo di equilibrio deve esser regolato, corretto, altrimenti segue la morte. Osserviamo qui varie cose; in primo luogo, la solita, che la depressione insorge per cause patologiche e non fisiologiche; in secondo luogo, che questo fatto dell'aumento del nucleo non è punto generale; non si verifica affatto negli animali pluricellulari, nei quali anzi al contrario — come ho mostrato in un articolo sulla morte (07) il rapporto si modifica, a partire della blastula e fino alla vecchiaia, in senso inverso a quello detto da HERTWIG; perchè dunque insorgerebbe qui la morte? Perchè l'animale adulto compierebbe la funzione sessuale, quale aumento di grandezza nucleare deve questa compensare, se dal momento dei primi blastomeri all'età adulta il rapporto tra nucleo e plasma è invece diminuito? — Nè maggior valore dimostrativo ha l'osservazione fatta da KASANJEFF e da R. HERTWIG riportata a questo proposito, che i Parameci hanno il nucleo più grosso a digiuno, anzichè se sono nutriti; si tratta, si noti bene, del macronucleo; ed il macronucleo è con molta probabilità omologo parzialmente, ed analogo all'ergastoplasma delle cellule

secernenti (ENRIQUES 07, 1), cioè ha funzioni nella nutrizione, digestione soprattutto; che meraviglia che l'apparecchio della secrezione ingrandisca quando secreto non viene utilizzato? Onde non giusta è l'interpretazione dell'A., che le divisioni di digiuno siano conseguenza di questo rapporto nucleo-plasmatico modificato, e perciò vengano ad essere in rapporto colla coniugazione. E tanto meno possiamo vedere — conseguenza ulteriore dell'A. — un rapporto tra la moltiplicazione dei pluricellulari e le divisioni di digiuno dei Protozoi; giacchè, se pure è vero che a queste ultime può seguire la coniugazione — ciò che non accade sempre — è anche vero che tra le divisioni di digiuno e la coniugazione sono interposte le divisioni di maturazione, che corrispondono a quelle omonime dei pluricellulari; nè vale a sciogliere l'intreccio, la supposizione che le divisioni di digiuno servano a maturare il macronucleo, mentre le seguenti, ad operare la maturazione del micronucleo. Come si può capire questa maturazione del macronucleo, destinato a distruggersi senza prender parte all'atto coniugativo? Nè le divisioni di digiuno sono in numero fisso (MAUPAS, citato da HERTWIG stesso) nè, lo ripeto e vi insisto — ad esse segue generalmente la coniugazione, che ben più raramente si osserva, e che non risulta avvenisse nelle culture prese in considerazione dal KASANZEFF per misurare i nuclei degli animali a digiuno. Altro dunque il significato delle divisioni di digiuno, e facile a capirsi se ci si ponga da un punto di vista Spenceriano: la diminuzione di alimento diminuisce la possibilità di nutrirsi; dividendosi ed impiccolendo, l'animale raggiunge un effetto utile, giacchè la sua superficie è diminuita meno del suo volume (questo in ragione del cubo, quella in ragione del quadrato della dimensione lineare); e l'assorbimento avviene attraverso a superficie, mentre la sostanza da nutrire rappresenta tutto il volume dell'animale. Che questo modo di vedere, sebbene teleologico, non sia errato, lo dimostra il fatto generale, assolutamente generale in tutti i regni della natura vivente, che gli organismi ben nutriti non solo si moltiplicano di più, ma sono anche più grandi di quelli nutriti male; fatto questo il quale, nonostante la semplicità apparente, nonostante che non vi poniamo attenzione di frequente appunto perchè lo osserviamo continuamente, esprime una proprietà molto intima della sostanza vivente, giustificando il concetto ben noto di SPENCER, che la divisione sia necessaria, dato il cambiamento di rapporto tra superficie e volume, quando la cellula o l'organismo sono cresciuti fino ad un certo limite.

Concludendo, l'azione della coniugazione, di regolare il rapporto nucleo-plasmatico, non ha nessuna prova che resista alla critica.

Assai strana è la concezione di LOISEL nel suo complesso; egli crede che la degenerazione dipenda dalla immobilizzazione di una parte delle molecole del protoplasma, sì che le sue attitudini assimilatrici sono diminuite; vede nella mescolanza di individui vissuti in condizioni differenti, l'azione del ringiovanimento; molti dati dimostrano l'intensità delle azioni chimiche nella coniugazione: azioni chimiche che si contrappongono alle azioni chimiche della senescenza; questa mescolanza di due individui, di due plasmii, è la parte essenziale, molto più della fusione nucleare, fenomeno venuto più tardi e che infatti non si osserva sempre.

Osservo in primo luogo che la così detta senescenza è una degenerazione non senile, ma patologica, come i miei esperimenti hanno dimostrato; ed in ogni caso l'interpretazione molecolare dell'autore non sarebbe né un'interpretazione né una spiegazione, ma è solo una parafrasi simbolica dei fatti constatati, relativi alla diminuzione di attività vitali che appunto costituisce la parte funzionale della degenerazione. In terzo luogo di ringiovanimento non si tratta, e già R. HERTWIG lo ha chiaramente dimostrato, come altrove abbiamo riferito. In quarto luogo, è assai doloroso che O. HERTWIG, e poi ambedue i fratelli, e molti altri biologi illustri in centinaia di importanti scritti abbiano sostenuto e dimostrato come la parte essenziale della fecondazione sia l'unione dei due nuclei, — non escludendo con questo, rigorosamente parlando, che anche la fusione dei plasmii abbia un'importanza — perché si venga a considerare l'unione nucleare come un piccolo incidente accessorio! Non so se l'A. pensasse con questo alle evidentemente incomplete osservazioni di HOYER (cfr. a pag. 242) o alla plasmogamia delle amebe, la quale non esclude che in un altro momento del loro ciclo evolutivo ci sia la vera fusione nucleare, tra le forme flagellate.

Strane anche le conseguenze logicamente dedotte da DELBOEUF — per via matematica — da premesse mal poste. Una condizione che faccia variare gli Infusori, purché continuata indefinitamente, li renderà tutti variati dopo un certo numero di generazioni, anche se agisca soltanto su una piccola percentuale di individui che nascono per scissione. (Ciò è matematicamente dimostrato.) La variabilità esiste; dunque tutti gli individui si troveranno modificati, dopo un certo tempo, se non interviene un'azione regolatrice, innovatrice, la

coniugazione. Con ciò egli si oppone all'appellativo di senile, per la degenerazione osservata dal MAUPAS. Evidentemente, il problema è mal posto quando l'autore passa allo svolgimento matematico, perchè si suppone una condizione che faccia variare gli Infusori sempre nello stesso senso, cosa che invece non si deve nè può supporre: la variabilità esiste, ma non è dimostrato che nella specie — si riproduca essa agamicamente, od intervenga la fecondazione — tale variabilità sia in un senso costante nei vari individui, e che non si possa tornare indietro, dopo aver subito una determinata variazione; e tanto meno è dimostrato che questa variabilità — quand' anche fosse in un senso determinato — debba condurre necessariamente alla morte se passa un certo limite. Inutile esaminare nei particolari la trattazione matematica della questione, fatta dall'A., la quale pecca anche per altri versi di questo difetto fondamentale — partire da premesse non giuste o non giustificate, e ritenere vere le conseguenze, perchè son dedotte a fil di logica.

XII. Conclusioni più importanti.

1° Possibilità della propagazione indefinita negli Infusori, senza coniugazione nè stimoli, possibilità della coniugazione tra parenti stretti o tra discendenti prossimi di exconiuganti.

2° Impossibilità di coniugarsi, per il *Colpoda Steini*, se l'ambiente liquido supera 2—3 mm di spessore in direzione verticale.

3° Esistenza di una „divisione sessuale“ nei Vorticellidi, per la quale micro e macrogameti si formano contemporaneamente da un individuo non sessualmente differenziato; impossibilità della coniugazione, negli individui che non son andati soggetti alla divisione sessuale.

4° Orientamento in direzione perpendicolare dei fusi cariocinetici omosessuali che si trovano contemporaneamente in divisione, in *Opercularia coarctata*, durante la coniugazione; orientazione sullo stesso asse dei fusi eterosessuali, nell'ultima divisione precedente la fusione dei nuclei.

5° Caratteri normali della prima divisione micronucleare nel microgamete in coniugazione, e nell'ultima di ciascun gamete, prece-

dente la fusione dei nuclei. Caratteri particolarissimi delle due divisioni di maturazione, per l'interposizione — in ambedue — di uno stadio di forte allungamento. Esistenza di radiazioni attorno al nucleo di fecondazione, orientate attorno a tutta la massa nucleare, priva di centrosomi, priva di struttura decifrabile in questo stadio.

Precedenza, piccola ma costante, degli stadi nel macrogamete, rispetto al microgamete.

Non posso raccogliere qui i risultati particolari di ciascun gruppo di osservazioni nè voglio raccogliervi le induzioni e vedute di indole generale, le quali perderebbero la loro efficacia, riassunte in poche righe. Posso però riassumere così tutto ciò che per vie diverse si riferisce alla necessità e condizioni della coniugazione:

Gli Infusori si propagano ugualmente con o senza coniugazione, pur di metterli in determinate condizioni di ambiente; il momento della coniugazione è determinato soltanto dalle condizioni di ambiente. Credo che l'effetto (lo *scopo*) della coniugazione sia quello di mantenere una certa fissità della specie, e ciò sia utile nella lotta per l'esistenza, che meglio si deve compiere coll'azione collettiva di individui uguali.

XIII. Bibliografia.

- 1891 AUERBACH, L.: Über einen sexuellen Gegensatz in der Chromatophylie der Keimsubstanzen nebst Bemerkungen zum Bau der Eier und Ovarien niederer Wirbeltiere. Sitz.-Ber. d. kgl. preuß. Akad. d. Wiss. Berlin p. 713—750; anche in Berl. klin. Wochenschr. Bd. 28.
- 1891 BALBIANI, E.: Sur les régénérations successives du péristome ecc. Zool. Anz. Bd. 14 p. 312—316 e 323—327.
- 1858 BARY, A. DE: Untersuchungen über die Familie der Konjngaten. Leipzig.
- 1904 BEAUCHAMP, P. DE: Sur la fixation à l'état d'extension des animalcules contractiles et spécialement des vorticelles. Bnll. Soc. zool. France Vol. 9 p. 26—27.
- 1894 BLOCHMANN: Über Kernteilung bei Euglena. Biol. Centralbl. Bd. 14 p. 194—197.
- 1896 BORGERT, A.: Zur Fortpflanzung der tripyleen Radiolarien. Zool. Anz. Bd. 19 p. 307—311.
- 1900 —: Untersuchungen über die Fortpflanzung der tripyleen Radiolarien, speziell von Anlachanta scolymantha. Zool. Jahrb. Bd. 14 p. 203—276.
- 1906 BOTT, K.: Über die Fortpflanzung von Pelomyxa palustris. Arch. f. Protistenk. Bd. 8 p. 120—158.

- 1892 BOVERI, TH.: Befruchtung. MERKEL u. BONNET, Ergebnisse Bd. 1 p. 386—485.
- 1893 BRAUER, A.: Zur Kenntnis der Reifung des parthenogenetisch sich entwickelnden Eies von *Artemia salina*. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 43 p. 112—123.
- 1876 BÜTSCHLI, O.: Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge der Eizelle, die Zellteilung und die Konjugation der Infusorien. Arch. d. Senckenb. Naturf. Ges. Bd. 10.
- 1887—89 —: Protozoa. BRONN's Klassen und Ordnungen des Tierreiches. Leipzig.
- 1902 CALKINS, G. N.: Degeneration in *Paramecium* and so-called „Rejuvenescence“ without conjugation. Amer. Morph. Soc. Extr. in Sci. N. S. Vol. 19 p. 526.
- 1902 —: Studies on the life history of Protozoa. I. The life cycle of *Paramecium caudatum*. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. 15 p. 139—186.
- 1902 —: The six hundred and twentieth generation of *Paramecium caudatum*. Biol. Bulletin of t. Marine Biol. Laboratory Woods Hall, Mass Vol. 3 p. 192—205.
- 1904 —: Studies on the life history of Protozoa. IV. Death of the A. series. Conclusions. Journ. Exp. Zool. Baltimore Vol. 1 p. 423—461.
- 1902 CALKINS, G. N. & LIEB, C. C.: Studien on the life-history of Protozoa. II. The effect of stimuli on the life-cycle of P. c. Arch. f. Protistenk. Jena Bd. 1 355—371.
- 1903 CHÉNEVEAU, C. & BOHN, G.: De l'action du champ magnétique sur les Infusoires. C. R. Acad. Sc. Vol. 136 p. 1579—1580.
- 1901 CUÉNOT, L.: Recherches sur l'évolution et la conjugaison des Grégarines. Arch. de Biol. Vol. 17 p. 581—651.
- 1898 DELAGE, Y.: Embryons sans noyau maternel. C. R. Acad. Sc. Vol. 127 p. 528—531.
- 1891 DELBŒUF, J.: Une loi mathématique applicable à la dégénérescence qui affecte les Infusoires ciliés à la suite de fissiparitions répétées. Revue scientifique Vol. 47 p. 368—371.
- 1900 DOFFLEIN, F.: Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. IV. Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. Bd. 14 p. 1—60.
- 1862 ENGELMANN, TH. W.: Zur Naturgeschichte der Infusionstiere. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 11.
- 1876 —: Über Entwicklung und Fortpflanzung von Infusorien. Morph. Jahrb. Bd. 1 p. 573—635.
- 1902 ENRIQUES, P.: Ricerche osmotiche sugli Infusori. Rendic. Acad. Lincei (5) Vol. 11 p. 340—347.
- 1902 —: Ricerche osmotiche sui Protozoi delle infusioni. Ibid. p. 392—397.
- 1902 —: Osmosi ed assorbimento nelle reazioni a soluzioni anisotoniche. Ibid. p. 495—499.
- 1902 —: Adattamento degli Infusori marini alla vita nell'acqua dolce. Monit. zool. ital. Anno 13 (suppl.) p. 49—50.
- 1903 —: Sull'adattamento degli Infusori marini alla vita nell'acqua dolce. Rendic. Accad. Lincei (5) Vol. 12 p. 83—88.
- 1903 —: Sulla così detta degenerazione senile dei Protozoi. Monit. zool. ital. Vol. 14 (suppl.) p. 349—351. (*Stylonichia*, *Oxytricha*.)
- 1905 —: Della degenerazione senile negli Infusori. Rendic. Accad. Lincei (5) Vol. 14 p. 351—357. (*Glancoma*.)
- 1905 —: Ancora della degenerazione senile negli Infusori. Ibid. p. 390—395. (*Stylonichia*, *Vorticella*.)

- 1907 —: Sui nuclei degli Infusori e le loro omologie. *Biologica* Vol. 1 (in corso di stampa).
- 1907 —: La morte. *Rivista di Scienze* Vol. 1 (in corso di stampa).
- 1908 ENTZ, G.: Einiges über das Variieren der Infusorien. *Math. Nat. Ber. Ungarn* Bd. 19 p. 125—144.
- 1904 FAURE-FREMIET, É.: Épiration et rajouissement chez les Vorticellidae. *C. R. Soc. Biol.* Vol. 57 p. 426—430.
- 1905 —: Sur la structure du Macronucleus chez les Vorticellidae. *C. R. Soc. Biol. Paris* Vol. 58 p. 602—603.
- 1905 —: Sur une variation expérimentale de la Vorticella microstoma. *C. R. Soc. Biol. Paris* Vol. 59 p. 424—426.
- 1896 GALLARDO, A.: Essai d'interprétation des figures karyokinétiques. *An. Mus. Buenos Aires* Vol. 5 p. 11—12.
- 1896 —: La carioquinesis. *An. soc. Argent.* Vol. 42 p. 5—34.
- 1897 —: Significado dinámico de las figuras cariocinéticas y celulares. *An. Soc. Arg.* Vol. 44 p. 124, 140.
- 1902 —: Interpretación dinámica de la división celular. *Buenos Aires*.
- 1890 GIARD, A.: Sur les globules polaires et les homologues de ces éléments chez les Infusores ciliés. *Bull. scientif. de la France et de la Belgique* Vol. 22 p. 202—221.
- 1904 GRASSI, B. & A. FOÀ: Ricerche sulla riproduzione dei Flagellati. *Rendic. Accad. Lincei* (5) Vol. 13 (anno 301) p. 241—252.
- 1896 GREENWOOD: On structural change in the resting nuclei of Protozoa. I. The macronucleus of *Carchesium polypinum*. *Journ. Physiol.* Vol. 20 p. 427—454.
- 1903 GRENET, H.: Action du champ magnétique sur les Infusoires. *C. R. Soc. Biol.* Vol. 55 p. 957—958.
- 1884 GRUBER, A.: Über Kern und Kernteilung bei den Protozoen. *Zeitschr. f. wiss. Zool.* Bd. 40 p. 121—153.
- 1900 GUGONARD, L.: L'appareil sexuel et la double fécondation dans les Tulipes. *Ann. de sc. nat. Botanique* Vol. 9.
- 1902 GUILLERMOND, M. A.: Recherches cytologiques sur les levures. Thèse doctorat Paris.
- 1904 HAMBURGER, C.: Die Konjugation von *Paramecium hirsaria* FOCKE. *Arch. f. Protistenk.* Bd. 4 p. 199—239.
- 1877 HERTWIG, R.: Über den Bau und die Entwicklung der *Spirochona gemmipara*. *Jenaer Zeitschr.* Vol. 11.
- 1884 —: Über die Kernteilung bei *Actinosphaerium eichhornii*. *Jena. Zeitschr. Naturw.* Bd. 17 p. 490—518.
- 1888 —: Über Kernteilung bei Infusorien. *Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. München* Vol. 3 p. 127.
- 1889 —: Über die Konjugation der Infusorien. *Abh. d. kgl. bayr. Akad. d. Wiss. Kl. 2* Vol. 17 (1) p. 155—233.
- 1892 —: Über Befruchtung und Konjugation. *Verh. d. deutsch. zool. Ges. Berlin* p. 95—113.
- 1896 —: Über die Entwicklung des unbefruchteten Seeigelleies. Ein Beitrag zur Lehre von der Kernteilung und der geschlechtlichen Differenzierung. *Festschr. f. GEGENBAUR.* Leipzig.
- 1899 —: Über Kernteilung, Richtungsbildung und Befruchtung von *Actinosphaerium eichhornii*. *Abh. d. Akad. München* Bd. 19 p. 631—734.

- 1899 —: [Über die Umgestaltungen des Centrosoma während der Encystierung von A. E.] Proc. 4. Intern. Congr. Zool. p. 201—202.
- 1899 —: Was veranlaßt die Befruchtung der Protozoen? Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morphol. n. Physiol. München Bd. 15 p. 62—69.
- 1900 —: Mit welchem Recht unterscheidet man geschlechtliche und ungeschlechtliche Fortpflanzung? Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morphol. n. Physiol. München Bd. 15 p. 142—153.
- 1900 —: Über physiologische Degeneration bei Protozoen. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morphol. n. Physiol. München Bd. 16 p. 88—94.
- 1902 —: Die Protozoen und die Zelltheorie. Arch. f. Protistenk. Bd. 1 p. 1—40.
- 1902 —: Über Wesen und Bedeutung der Befruchtung. Sitz.-Ber. d. math.-phys. Kl. d. bayr. Akad. d. Wiss. Bd. 32 p. 57—73.
- 1903 —: Über Korrelation von Zell- und Kerngröße und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle. Biol. Centralbl. Bd. 33 p. 49—62.
- 1903 —: Über das Wechselverhältnis von Kern und Protoplasma. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morphol. n. Physiol. München Bd. 18 p. 77—100.
- 1904 —: Über Konjugation von *Dileptus gigas*. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. München Bd. 20 p. 1—3.
- 1904 —: Über physiologische Degeneration bei *Actinosphaerium eichhorni*. Denkschr. d. Med.-Nat. Ges. Jena Bd. 11 p. 301—354.
- 1905 —: Über das Problem der sexuellen Differenzierung. Verh. d. deutsch. zool. Ges. Bd. 15 p. 186—214.
- 1901 HICKSON, S. J.: The reproduction and life-history of the Protozoa. Trans. Manchester Micr. Soc. 1900 p. 25—31.
- 1902 [HICKSON, S. J.] & WADSWORTH, G. T.: *Dendrocometes paradoxus*. Part I. Conjugation. Quart. J. Micr. Sci. Vol. 45 325—362. Sommario in J. R. Micr. Soc. 1902 p. 438.
- 1899 HOYER, H.: Über das Verhalten der Kerne bei der Konjugation des Infusors *Colpidium colpoda* St. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 54 p. 95—134.
- 1884 JICKEL, C. F.: Über die Kernverhältnisse der Infusorien. Zool. Anz. Bd. 7 p. 468—473, 491—497.
- 1893 JOHNSON, H.: A contribution to the morphology and hilogy of the Stentors. Journ. Morph. Vol. 8 p. 467—562.
- 1898 JOCKOWSKY, D.: Beiträge zur Frage nach den Bedingungen der Vermehrung und des Eintrittes der Konjugation bei den Ciliaten. Verh. d. Nat.-Med. Ver. Heidelberg (2) Bd. 6 p. 17—42.
- 1895 KARAWAIEW, W.: Beobachtungen über die Struktur und Vermehrung von *Aulacantha scolymantha*. Zool. Anz. Bd. 18 p. 286—289, 293—301.
- 1896/97 KARSTEN, G.: Untersuchungen über Diatomeen. Flora Bd. 82 p. 296, Bd. 85 p. 33—53, 203—222.
- 1901 KASANEFF: Experimentelle Untersuchungen über *Paramaecium caudatum*. Inaug.-Diss. Zürich. 60 p.
- 1895 KEUTEN, J.: Kernteilung von *Euglena viridis*. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 60 p. 215—235.
- 1900 KULAGIN, N.: Zur Biologie der Infusorien. Physiol. Russe Vol. 1 p. 269—275.
- 1903 LOEWENTHAL, W.: Beiträge zur Kenntnis des *Basidiobolus lacertae*. Arch. f. Protistenk. Bd. 2 p. 364—415.

- 1903 LOISEL, G.: Sur la sénescence et sur la conjugaison des Protozoaires. Zool. Anz. Bd. 26 p. 484—495.
- 1886 MAUPAS, E.: Sur la conjugaison des Infusoires ciliés. C. R. Acad. sc. Paris Vol. 102 p. 1569—1572.
- 1886 —: Sur la conjugaison des Paramécies. Ibid. Vol. 103 p. 482—484.
- 1887 —: Sur la naissance de multiplication des Infusoires ciliés. C. R. Acad. Sc. Vol. 104 p. 1006—1008.
- 1887 —: Sur la conjugaison du *Paramaecium bursaria*. Ibid. Vol. 105 p. 955—957.
- 1888 —: Sur la conjugaison des Vorticellides. Ibid. Vol. 106 p. 1607—1610.
- 1888 —: Sur la multiplication des Infusoires ciliés. Arch. zool. expér. (2) Vol. 6. p. 165—277.
- 1889 —: Le rajonnement caryogamique chez les ciliés. Ibid. Vol. 7 p. 148—517.
- 1906 MERCIER, L.: Phénomènes de sexualité chez *Myxobolus Pfeifferi*. C. R. Soc. Biol. Paris Vol. 60 p. 427—428.
- 1899 NAWASCHIN: Neue Beobachtungen über Befruchtung bei *Fritillaria* und *Lilium*. Botau. Centralbl. Bd. 77.
- 1904 PITTALUGA: Partenogenesi nei macrogameti di *Laverania*. A. Parasitol. Paris Vol. 7 p. 389—397.
- 1888 PLATE, L.: Studien über Protozoen. Zool. Jahrb. Abt. f. Morphol. Bd. 3 p. 135—200.
- 1905 PRANDTL, H.: Reduktion und Karyogamie bei Infusorien. Biol. Centralbl. Bd. 25 p. 144—151.
- 1906 —: Konjugation von *Didinium nasutum*. Arch. f. Protistenk. Bd. 7 p. 229—258.
- 1904 PROWAZEK: Die Entwicklung von *Herpetomonas*. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 20 p. 440—452.
- 1905 —: Studien über Säugetiertrypanosomen. Ibid. Bd. 22 p. 45.
- 1888 RHUMBLER, L.: Die verschiedenen Cystenbildungen und die Entwicklungsgeschichte der holotrichen Infusoriengattung *Colpoda*. Zeitschr. f. wissensch. Zool. Bd. 46 Bd. 549—601.
- 1903 —: Mechanische Erklärung der Ähnlichkeit zwischen magnetischen Kraftliniensystemen und Zellteilungsfiguren. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. 16 p. 476—536.
- 1895 RÜCKERT, J.: Über das Selbständigbleiben der väterlichen und mütterlichen Kernsubstanz während der ersten Entwicklung des befruchteten Cyclops-eies. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 45 p. 339—369.
- 1905 RUSSO, A. & S. DI MACRO: Frammentazione del macronucleo nel *Cryptochilum echini* e sua significazione per la senescenza degli Infusori. Boll. Accad. Gioen. Catania Fasc. 84 6 p.
- 1905 —: Differenziazioni citoplasmiche nel *Cryptochilum echini* (MACPAS). Boll. Accad. Gioen. d. Sc. Nat. Catania Fasc. 84 5 p.
- 1905 —: La conjugazione ed il ringiovanimento nel *Cryptochilum echini*. Ibid. Fasc. 85 6 p.
- 1904 SCHAUDINN, F.: Generations- und Wirtswechsel bei *Trypanosoma* und *Spirochäte*. Arb. aus d. kais. Gesundheitsamte Bd. 20 p. 387—439.
- 1905 —: Neuere Forschungen über die Befruchtung bei Protozoen. Verb. d. deutsch. zool. Ges. p. 16—35.
- 1888 SCHIEWIAKOFF, W.: Über karyokinetische Kernteilung der *Euglypha alveolata*. Morph. Jahrb. Bd. 13 p. 193—258.
- 1901 SIMPSON, J.: Observations on binary Fission in the life-history of Ciliata. Proc. R. Soc. Edinb. Vol. 23 p. 401—421.

- 1902 —: The relation of binary Fission and Conjugation to Variation. Rep. 71 Meet. Brit. Ass. Adv. Sc. p. 688—689.
- 1903 SMITH, G.: Actinosphaerium eichhorni. A biometrical study in the mass relations of nucleus and cytoplasm. Biometrika Vol. 2 p. 241—254.
- 1903 STEVENS, N. M.: Notes on Regeneration in Stentor coerules. Arch. Entwicklungsmech. Vol. 16 p. 461—475.
- 1905 VERSLUYS, J.: Über die Konjugation der Infusorien. Biol. Centralbl. Bd. 26 p. 46—62.
- 1905 VAHLKAMPF, E.: Zur Biologie und Entwicklungsgesch. von Amoeba limax ecc. Arch. Protistenk. Bd. 5 p. 167—220.
- 1901 WALLENGREN, H.: Zur Kenntnis der Neubildungs- und Resorptionsvorgänge bei der Teilung der hypotrichen Infusorien. Zool. Jahrb. Bd. 15 p. 1—58.
- 1905 WOODRUFF, L.: An experimental study on the life-history of hypotrichous infusoria. Journ. Exper. Zool. (Baltimore) Vol. 2 p. 585—632.
- 1905 —: Physiological and morphological changes during 860 generations of Oxytricha fallax. Science (2) Vol. 21 p. 270.

XIV. Siegazione delle Tavole.

Tutte le Figure, tolte da preparati di *Opercularia coarctata*, sono state disegnate alla camera lucida, con obbiettivi ad immersione. Quelle della tavola V, ridotte alla metà nella riproduzione dai disegni originali, hanno un ingrandimento di 750 diametri; sono tolte da preparati in toto, colorati con carmino boracico e verde metile, salvo indicazione in contrario; le Fig. 43—46 con fatte ad occhio dal vivo (ingrand. indeterminato). Nelle tavole VI—VIII tutte le figure son tolte da sezioni, ordinariamente grosse 5 micron, colorate coll'ematossilina ferrica, salvo indicazione in contrario. L'ingrandimento è di 2000 diametri.

Tavola V.

- Fig. 1—2. Divisione sessuale.
- Fig. 3. Inizio della coniugazione.
- Fig. 4—6. Prima divisione del mi. nel microgamete.
- Fig. 7—17. Prima divisione di maturazione.
- Fig. 18—22. Seconda divisione di maturazione.
- Fig. 23—25. Ultima divisione.
- Fig. 26—29. Spostamento dei nuclei e coniugazione.
- Fig. 30—32. 1ª divisione del nucleo di fecondazione.
- Fig. 32—34. 2ª divisione.
- Fig. 35—39. Formazione dei nuovi macronuclei.
- Fig. 40. Stadio eccezionale, con 7 Ma. e 1 mi.
- Fig. 41—42. Spartizione dei Ma.
- Fig. 43—46. Coniugazioni a fresco.
- Fig. 2. Si notino i corpi interni (verdi) del Ma.
- Fig. 4. Piastra equatoriale nel microg.
- Fig. 5. Principio delle modificazioni nel macrogamete (Ma.).
- Fig. 6. Seguito. Corpi interni allungati, come nella divisione, cfr. Fig. 2.
- 2 mi. nel microg.

Fig. 7. Fuso primario nel mi. del macrog.; mi. del microg. non ancora modificati.

Fig. 8—9. Tolte della stessa Opercularia, con fnochi diversi. Fusi primari. Ma. del macrog. e microg., in spezzettamento.

Fig. 10. Stadio dell'allungamento del fuso primario, nel macrog.

Fig. 11. Stadio di poco più avanzato.

Fig. 12. Stadio del raccoglimento, dopo l'allungamento. Coniugazione doppia.

Fig. 13. Fuso secondario, di recente formato (fibre divergenti); l'altro mi. del microg. e quello del macrog. non son disegnati.

Fig. 14. Piastre equatoriali (i cromosomi son circa 16).

Fig. 15. Stadio più avanzato della divisione; i cromosomi son ancora numerosi in ciascun gruppo, ma son stati un poco diminuiti di numero nel disegno, per maggior chiarezza, dovendosi rappresentare su un piano quello che non è su un piano.

Fig. 16. Nuclei figli in formazione. I filamenti rinventi sono 8 nel mi. del macrog.

Fig. 17. Separazione dei nuclei.

Fig. 18. Stadio dell'allungamento (2a divisione di maturazione).

Fig. 19. Piastre equatoriali.

Fig. 20. Id., coniugazione doppia. I cromosomi son numerosi (16?) ma diminuiti nel disegno, cfr. spiegazione a Fig. 15.

Fig. 21. Separazione dei cromosomi nel microg.; son già separati nel macrogamete.

Fig. 22. 8 mi. nel microg., 4 nel macrog., tutti uguali.

Fig. 23. Coniugazione doppia. Fusi primari dell'ultima divisione.

Fig. 24. Fusi secondari dell'ultima divisione. Nel macrog. si contano con certezza 8 cromosomi.

Fig. 25. Fine dell'ultima divisione.

Fig. 26. I due nuclei derivatine in ciascun gamete, ancora ravvicinati.

Fig. 27. I nuclei allontanati e modificati.

Fig. 28. I due nuclei nell'atto dell'unione.

Fig. 29. I due nuclei già fusi.

Fig. 30. Fuso e piastra equatoriale, dopo la copulazione; difficile contare i cromosomi, che sono però assai più di 8.

Fig. 31. Fine di questa divisione.

Fig. 32. Opercularia con due nuclei identici.

Fig. 33. Divisione dei due nuclei.

Fig. 34. Opercularia con 4 nuclei identici.

Fig. 35. Accrescimento di tre nuclei frai quattro.

Fig. 36—37. Stadi ulteriori dello stesso accrescimento.

Fig. 38. Allungamento dei nuclei ingrossati.

Fig. 39. Stadio ulteriore di questo allungamento.

Fig. 40. Forma eccezionale, con 8 nuclei, di cui 7 in via di ingrossare.

Fig. 41. Spartizione dei Ma., e fuso primario del mi.

Fig. 42. Risultato della prima spartizione dei Ma.

Fig. 43. Ingresso del microgamete nel macrog. (dal vivente).

Fig. 44. Altro individuo, con doppia coniugazione.

Fig. 45. Lo stesso. Stadio più avanzato.

Fig. 46. Lo stesso. Stadio dell'allungamento, con perfetto accordo frai tre gameti.

Tavola VI.

Fig. 47. Ma. normale (coloraz. con carmino boracico e verde metile le parti chiare sono in verde).

Fig. 48. Ma. al principio delle trasformazioni per la divisione. Coloraz. come sopra.

Fig. 49. Stadio più avanzato; anche il mi. modificato (fuso primario). Coloraz. come sopra.

Fig. 50—52. Stadi della divisione sessnale.

Fig. 53. Principio delle modificazioni del mi. nel microg. in coniugazione.

Fig. 54. 2 mi. nel microg. e Ma. del macrog. che comincia a modificarsi.

Fig. 55. Principio della prima divisione di maturazione; mi. modificato specialmente nel macrog.

Fig. 56. Formazione del fuso primario.

Fig. 57. Altra sezione dello stesso individuo, per mostrare le modificazioni del Ma.

Fig. 58. Fuso primario.

Fig. 59. Altra sezione dello stesso individuo, per mostrare le modificazioni del Ma.

Fig. 60. Come sopra.

Fig. 61—62. Sezioni di uno stesso individuo, stadio del massimo allungamento.

Fig. 63. Mi. nel massimo allungamento, macrogamete.

Fig. 64. Uno stadio poco più avanzato. Nel microgamete vi è un solo micronucleo; l'altro è nella sezione vicina, cioè nella.

Fig. 65.

Fig. 66—68. Progressivo aumento di cromaticità nei micronuclei allungati.

Fig. 69. Accorciamento dei mi.

Tavola VII.

Fig. 70. Id., in mi. nei quali non era aumentata la cromaticità.

Fig. 71. Accorciamento più avanzato.

Fig. 72. Accorciamento, con sfere opaline, probabilmente prodotte dai reagenti.

Fig. 73. Ritorno alla forma sferica.

Fig. 74. Principio del fuso secondario.

Fig. 75—77. Assestamento progressivo del reticolo nucleare per giungere alla formazione del fuso secondario.

Fig. 78. Fuso secondario quasi formato.

Fig. 79. Fuso secondario con piastra equatoriale.

Fig. 80. Allungamento del fuso secondario.

Fig. 81. Separazione dei cromosomi.

Fig. 82. Ricostituzione dei nuclei figli.

Fig. 83. Aspetto dei nuclei al momento del distacco.

Fig. 84—85. Stadi simili al precedente.

Fig. 86. Stadio poco più avanzato.

Fig. 87. Ricostituzione della struttura normale nei nuclei figli.

Fig. 88. Fuso primario della seconda divisione di maturazione (microgamete).

Fig. 89. Fusi secondari della stessa divisione, coniugazione doppia.

Fig. 90. 4 nuclei nel macrogamete (ed 8, non disegnati, nel microgamete).

Fig. 91. Come sopra; stadio poco posteriore.

- Fig. 92. Modificazioni dei mi. che non vengono utilizzati (microgamete).
 Fig. 93. Stadio poco più avanzato; mi. che si prepara all'ultima divisione.
 Fig. 94. Stadio simile a quello della fig. precedente, ma con aspetti un poco diversi.
 Fig. 95. Fusso primario dell'ultima divisione (microg.).
 Fig. 96. Fusi secondari.
 Fig. 97. Spartizione dei cromosomi (circa 8 per ogni parte) (macrogamete).
 Fig. 98. Fine dell'ultima divisione (microg.).
 Fig. 99. Avvicinamento dei nuclei eterosessuali.
 Fig. 100. Ulteriore avvicinamento, con rottura della membrana divisoria.
 Fig. 101. 2 nuclei, dopo la copulazione.
 Fig. 102. 2 nuclei, allo stadio di fusso primario.
 Fig. 103. Id., allo stadio di fusso secondario; spartizione di cromosomi, in uno dei due. Il loro numero è stato leggermente diminuito, per maggior chiarezza del disegno.
 Fig. 104. Fine di questa seconda divisione.
 Fig. 105—106. Modificazioni dei nuclei destinati a diventare Ma.

Tavola VIII.

- Fig. 107—110. Modificazioni dei nuclei destinati a diventare Ma.
 Fig. 111—117. Id., ma con maggiore sviluppo di sostanza cromatica.
 Fig. 118. Spartizione dei Ma.
 Fig. 119. Una Opercularia dopo la spartizione dei Ma.

Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

(Aus dem Zool. Institut der Universität Marburg.)

Über die Entwicklung und Fortpflanzung von *Echinomera hispida* (A. SCHN.)

Von
C. Schellack.

(Hierzu Tafel IX—XI und 3 Textfiguren.)

Im Jahre 1902 stellten LÉGER und DUBOSCQ in einer eingehenden Arbeit über die Ontogenie der hauptsächlichsten Gregariniden-Familien auch die der Dactylophoriden an der Gattung *Pterocephalus* fest, und skizzierten dann in zwei kürzeren Aufsätzen 1902 und 1903 die Grundzüge der Fortpflanzung bei den Vertretern dieser Gattung. Es mußte zweifelhaft bleiben, inwieweit ihre Resultate für die ganze Familie charakteristisch sind, wenn auch die Verwandtschaftsverhältnisse der bis jetzt bekannten fünf Gattungen mit acht Arten (sämtlich in Chilopoden gefunden) nicht allzu weite sind. Da es wünschenswert erscheint, die Entwicklung und geschlechtliche Fortpflanzung der Gregarinen in größerem Umfange festzustellen, als dies bisher geschehen war, und da auch eine ganze Reihe nicht unwichtiger einzelner Züge noch eingehender zu erforschen war, so machte ich es mir zur Aufgabe, an der Gattung *Echinomera* die bisher nur bei *Pterocephalus* in einzelnen Arbeiten verfolgten Verhältnisse zusammenfassend zu studieren. Außer ihr wäre von Dactylophoriden nur noch *Dactylophora* in Betracht gekommen, die aber in hiesiger Gegend seltener zu finden ist. *Echinomera hispida* wurde im Darmkanal von *Lithobius forficatus* L. 1875 von AIMÉ SCHNEIDER entdeckt und als *Echinocephalus* beschrieben — von LABBÉ in obiger

Weise benannt, da der alte Name einem Nematoden zukommt —. Spezielle Arbeiten über die Form sind nicht vorhanden, nur CRAWLEY benutzte sie 1902 bei seinen Studien über die Bewegung der Gregarinen, und ebenso wenig behandelt ist die zweite Art der Gattung, *E. horrida* (LÉGER), die 1899 von L. LÉGER in *Lithobius calcaratus* aufgefunden wurde, aber sicher näher an *Pterocephalus* zu stellen ist als *hispida*. Über die anderen Vertreter der Familie sind ebenfalls nur die Gattungs- und Art-Charakteristika und einzelne morphologische Befunde an Cysten und Sporen vorhanden.

Material und Methode der Untersuchung.

Das Material, das ich zu meinen Untersuchungen nötig hatte, stand mir aus den Wäldern in der Umgebung Marburgs in reichlichem Maße zur Verfügung. Beim Sammeln der Tiere konnte ich eine biologische Eigentümlichkeit, die bereits dem Entdecker der *Echinomera* aufgefallen war, oft bestätigen: unter den Gregarinen hat noch eine zweite Form, *Actinocephalus dujardini*, ihren Wohnsitz im Darm des *Lithobius*, und man bemerkt bald, wie scharf die beiden Formen auf einem sehr engen Verbreitungsgebiet, manchmal nur etwa zwei Quadratkilometern, sich gegenseitig anschließen; dabei bevorzugt *Echinomera* ganz offenbar die waldigen Gegenden, während ich *Actinocephalus* nie außer in Gärten und Anpflanzungen gefinden habe; wenn Ausnahmen vorkamen, so bestanden sie immer nur darin, daß *Echinomera* in das Gebiet des *Actinocephalus* eingedrungen war, nicht umgekehrt, und dann kann es auch in einigen sehr seltenen Fällen vorkommen, daß beide zugleich denselben Darm bewohnen, *Echinomera* aber in weit geringerer Anzahl. Was das Vorkommen in den verschiedenen Jahreszeiten anbelangt, so war zu bemerken, daß die Gregarine in ihren Wirtstieren überwintert, wie man auch *Gregarina orata* (L. DUFOUR) mitten im Winter in einzelnen Riesenexemplaren in den wenigen am Leben bleibenden *Forficula* finden kann: im Dezember oder Jänner eingebrachte *Lithobien* beginnen meist nach einigen Wochen mit einer sehr reichlichen Cystenentleerung.

Die Pflege der Tiere und die Aufzucht der Cysten bot mir im Anfang einige Schwierigkeiten, bis ich auf dieselbe Methode kam, die SCHAUDINN bei seinen Studien über das *Coccidium schubergi* (1900) anwandte. Große Glasgefäße wurden so gut wie möglich desinfiziert und am Boden mit dicken Lagen von ebenfalls desin-

fiziertem Fließpapier belegt, darüber zum Teil mit losen feuchten Ballen davon angefüllt. So konnten die Cysten in den ausgeschiedenen Kotballen mit Leichtigkeit gefunden werden und jegliche Pilzbildung, die die Cysten sehr bald und bei starker Überhandnahme auch die Wirtstiere tötet, durch ständiges Entfernen der oberen Lagen des Papiers vermieden werden. In ähnlichen kleineren Gefäßen wurden auch die Cysten zur Reifung gebracht — in beiden Fällen ist aber die erste Bedingung ständiges Feuchthalten des Papiers. Will man die reifen Sporen sammeln, so muß man nach etwa fünf Tagen die Wände der kleinen Gefäße absuchen, an die die kleinen schwarzen Sporenballen mit großer Vehemenz angeschleudert und angeklebt werden. Gefüttert wurden die Lithobien mit klein zerschnittenen Mehlwürmern, und auch die künstliche Infektion wurde in der Weise ausgeführt, daß die Sporenballen auf sie aufgetragen und dann den Lithobien vorgehalten wurden, bis man sich überzeugt hatte, daß sie gefressen waren.

Die Konservierungsmethoden boten ngleich größere Schwierigkeiten infolge der starken Cystenhüllen, die so undurchlässig sind, um nur ein Beispiel zu erörtern, daß die Cysten nach der Konservierung und Überführung in Alkohol absolutus hierin einfach völlig austrocknen, ohne daß der Alkohol eindringt und es danach wochenlang dauert, ehe Xylol und Paraffin eindringen. Allein diese Hüllen sind es, die in der Gregarinenliteratur so viele Irrtümer haben ankommen lassen: typisch für ihre Wirkungen sind Zeichnungen von CECCONI (Arch. d'Anat. micr. Vol. V. Taf. V, 6, 8) und die bekannten Figuren von WOLTERS, wie man sie für andere Formen durch Konservieren mit der Cystenhülle leicht künstlich herstellen kann. Es blieb mir nach langen vergeblichen Versuchen nichts anderes übrig, als die Hüllen mit feinen Nadeln zu entfernen, was nach einiger Übung auch recht gut gelingt, vor allem wenn die Cysten nicht zu feucht gehalten werden: dann genügt meist ein leiser Druck sie zu sprengen, und man kann die völlig unverletzten Tiere sofort in die Konservierungsflüssigkeit bringen. Recht gute Erfolge erzielte ich für die Mitosen, speziell die Sphären und Centrosome, der jüngeren Tochterkerne mit der neuerdings von DUBOSCQ und BRASIL (1895) angegebenen Flüssigkeit:

Pikrinsäure 1 g.

Essigsäure 10 ccm.

Formol (wässrige Handelslösung) 50 ccm.

Alkohol 75% 150 ccm.

Die Därme mit den Sporozoiten und reifen Gregarinen wurden etwa eine Minute lang in starker Flemmingscher Lösung konserviert. Die Färbung wurde ausgeführt mit HEIDENHAIN'schem Hämatoxylin und Nachfärbung mit Bordeauxrot, das in geringen Spuren in dem differenzierenden Eisenaalaun gelöst war, oder Eosin.

I. Die Darmgregarinen.

1. Sporozoiten-Entwicklung.

Die Ontogenie der polycystiden Darmgregarinen, soweit sie nach den Untersuchungen LÉGER's und DUBOSCQ's bisher bekannt ist, weist für die Protozoen insofern äußerst bemerkenswerte Verhältnisse auf, als sich hier allem Anschein nach in der Entwicklung des Individuums eine Wiederholung der Stammesgeschichte zeigt.

Im allgemeinen läßt sich diese Regel aufstellen, daß ein völliges Eindringen der Sporozoiten der polycystiden Darmgregarinen nicht stattfindet — wenn man von einer Ausnahme in *Gregarina ovata* (PÄHLER 1904) absieht — vielmehr immer nur eine Einsenkung bis höchstens zur Körpermitte erfolgt: und speziell lassen sich zunächst zwei primitivere Gruppen unterscheiden, soweit Feststellungen der Ontogenie der Gregarinen bisher überhaupt erfolgt sind. Es handelt sich um die Entstehung des Epimerits und sie verläuft bei der Gattung *Pyximia* in der Weise, daß sich das eingedrungene Ende des Sporozoiten durch einfaches Längenwachstum zum definitiven Epimerit ausbildet. Der Protomerit wird wie auch bei allen anderen Arten durch Entstehung eines ektoplasmatischen Septums in dem außerhalb der Darmzelle liegenden Teile der Gregarine gebildet. Die zweite Gruppe, durch die Gattung *Gregarina* dargestellt, läßt aus dem eingedrungenen Teile des fast kugelförmigen Sporozoiten ein Knöpfchen hervorgehen, das ebenfalls durch Wachstum zum definitiven Epimerit wird. Es scheint nun fast so, als ob es möglich wäre, auf diese beiden Typen die Mehrzahl der vorhandenen Epimeritformen zurückzuführen: jedenfalls hat man einerseits bei sehr vielen vermocht, freilich nur auf Grund rein morphologischer Betrachtungen, ohne die Ontogenie zum Beweise heranzuziehen, die Epimeritform von dem Knöpfchen der Gattung *Gregarina* abzuleiten. Andererseits aber — und das ist das Bemerkenswerte — treten die erwähnten Grundtypen transitorisch auch in der Ontogenie verschiedener Formen

auf: bei *Stylorhynchus* wird das knöpfchenförmige Epimerit der Gattung *Gregarina* gebildet, dann völlig resorbiert und ein ganz anders gestaltetes sekundäres Epimerit angelegt, bei *Pterocephalus* als primäres Epimerit der geschlängelte intracelluläre Faden der *Pyximia*.

Da LÉGER und DUBOSCQ durch die Untersuchung der Ontogenie dieser letzteren Gattung *Pterocephalus* den allgemeinen Typus für die Dactylophoriden festgelegt zu haben glauben, meine Untersuchungen an *Echinomera hispida* ihn aber einigermaßen modifizieren, möchte ich auf die Entwicklung des *Pterocephalus* etwas näher eingehen: der ungefähr 10—11 μ lange Sporozoit dringt bis zur Hälfte in eine Darmepithelzelle einer *Scolopendra cingulata* Newp. ein, der außerhalb liegende Teil verdickt sich, der innere behält seine fadenförmige Gestalt bei und schlängelt sich etwas, wodurch er die größte Ähnlichkeit mit dem definitiven Epimerit der *Pyximia* erhält; dann aber wird er völlig reduziert, und gleichzeitig legt sich die Gregarine selbst in einer höchst eigentümlichen Weise seitwärts nm, bis sie dem Darmepithel mit einem beträchtlichen Teil ihrer Körperoberfläche angeschmiegt ist; aus ihm sprießt nach unten der Haftapparat hervor, aus langen bis an den Grund der Zelle reichenden Filamenten bestehend, und nach oben hin bildet sich das Protomerit.

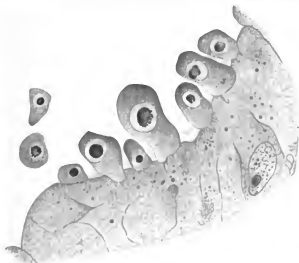
Bei *Echinomera hispida* mußte ich mich zunächst vergewissern, daß ich nicht durch ähnliche Stadien anderer Parasiten getäuscht wurde, und es gibt deren bei *Lithobius forficatus*, der allein verwandt wurde, nicht wenige: von Gregariniden¹⁾ noch *Actinocephalus dujardini*, aber wie erwähnt, schließen diese Formen sich aus, und es bietet keine Schwierigkeiten, Wirtstiere nur von *Echinomera* zu erhalten. Nach A. LALBÉ (Tierreich 1899) sind die anderen vorkommenden Parasiten Coccidien; in hiesiger Gegend im ganzen drei Arten: *Adelea ovata*, *Coccidium schubergi* und *Coccidium lacazei*, und alle drei können in einem Darm vorkommen. Gegen Irrtümer, die diese Tiere hervorrufen könnten, vermag man sich einmal dadurch zu schützen, daß man nach SCHAUDINN's Angaben (1900) die Versuchstiere von der Coccidiose heilt — das wurde ausgeführt und ist vorteilhaft, weil man dadurch bei ihnen ein normales Darmepithel erhält, das sonst immer mehr oder weniger stark von den Coccidien angegriffen wird. Nötig ist es nicht, denn andererseits sind die Sporozoitstadien dieser Formen an ihrer Größe zu erkennen, die

¹⁾ Erwähnen möchte ich, daß ich einmal das Coelom eines *Lith. forf.* völlig angefüllt fand mit einer Monocystidee; Cysten und auch Stadien noch im Darmepithel waren vorhanden. Es ist mir aber wahrscheinlich, daß die Infektion durch Fressen eines Regenwurmbodens erfolgt ist.

je nach der Art 15—40 μ beträgt, während der Sporozoit von *Echinomera* nur 4,3—4,5 μ lang ist, außerdem den Kern nicht in der Mitte des Körpers besitzt, wie alle Coccidien, sondern am distalen Pol. Die Merozoiten kommen ebensowenig in Betracht.

Gehen wir von den Stadien aus, die sich nach dem Verlassen der Sporocyste frei im Darmlumen bewegen, so kann man an ihnen ohne weiteres das vordere von dem hinteren Körperende unterscheiden; Fig. 1a zeigt einen solchen freien Sporozoiten eine Stunde nach der Infektion. Der Kern liegt an dem hinteren mehr verdickten Pol des spindelförmigen, wenig langgestreckten Tieres, der vordere Pol ist ausgezeichnet durch das auch bei allen anderen Formen vorhandene Rostrum, das ist eine Zuspitzung des helleren und dichteren * Plasmas an dieser Stelle. Mit ihm dringt der Sporozoit durchschnittlich bereits in der zweiten Stunde nach der Aufnahme in den Darm zwischen den Stäbchensaum der einzelnen Zellen ein und setzt sich fest. Die erste Abweichung von dem Verfahren des *Pterocephalus* ist dann die, daß sich das Rostrum nur ganz wenig in das Plasma der Zelle einbohrt; auf manchen bis zu fünfzehn Stunden alten Stadien sieht man auch das kaum — ein Irrtum wäre wegen der Kleinheit der Verhältnisse und der vielen Faltungen des Plasmas der Darmzelle leicht möglich, aber man kann sich durch Messungen überzeugen, daß das Tier immer in seiner normalen Länge und später darüber hinaus aus dem Epithel hervorragt. Und von einem Wachstumsprozeß in die Zelle hinein ist bisher bei keiner Form die Rede gewesen. Das sogenannte „transitorische Epimerit“ tritt hier also überhaupt nicht mehr auf, sondern das Tier schreitet gleich zur Bildung des sekundären Haftapparates. Dieser Vorgang ist prinzipiell von dem des *Pterocephalus* nicht unterschieden, auch hier werden die Seitenwände des Körpers des Sporozoiten dazu benutzt, aber in ganz anderer Weise herangezogen: die Achse legt sich nicht um, sondern bleibt senkrecht zum Epithel stehen, und der Sporozoit fließt gewissermaßen an ihr herab unter bedeutender Zunahme der Breite und geringerer der Länge, die durch das Wachstum ersetzt wird (Fig. 2, 3, 4, 5). Auch das kleine eingedrückene Spitzchen wird nun deutlicher sichtbar, da es ebenfalls verbreitert wird und auch weiter hineingerät. Nach etwa 109 Stunden war bei meinen Infektionsversuchen das Stadium beendet und nun sproßt (Fig. 6, 7) der Haftapparat selbst hervor. Zuerst zeigt sich (Fig. 6) eine etwas hervortretende Ansammlung helleren und dichteren Plasmas, die immer weiter hervorwächst, sich auch an andern Stellen wiederholt, bis die Fortsätze schließlich eine etwa fingerförmige Gestalt ange-

nommen haben. (Fig. 8 und Textfigur 1, die zugleich ein Bild von der Stärke mancher Infektionen geben soll.) Sie vermögen an verschiedenen Stellen ins Plasma einzudringen, auch zwischen die Zellgrenzen, und ihre Zahl kann sich bei weiterem Wachstum über die eine Zelle hinaus noch beliebig vergrößern: so findet man bei älteren Exemplaren oft an die zwanzig bis dreißig. Über den feineren Bau wäre zu bemerken, daß ihre Wand, vor allem an der Basis, sicher aus einer besonderen konsistenteren Substanz besteht, wie sich aus der Färbung ergibt und aus Schrumpfungen, denen sie bei Anwendung von anderen als Osmium-Gemischen leicht ausgesetzt sind. Es



Textfig. 1. Darmepithel von *Lithohius forficatus* mit jungen *Echinomera hispida*.
(Künstliche Infektion.)

folgt die Bildung des Protomerits, die etwa nach drei Wochen überall vollendet ist (Fig. 9). Sie äußert sich zunächst darin, daß die gröberen Körnelungen des Plasmas im vorderen Teile der Gregarine verschwinden, so daß es dort heller und dichter wird; dann beginnt von den Seiten her eine Einschnürung, der im Inneren die Ausbildung eines Septums parallel läuft, dem Anschein nach über die ganze Fläche hin gleichzeitig entstehend. Damit hat die Gregarine bei einer Größe von etwa $20\ \mu$ in dem ziemlich langen Zeitraum von etwa 3 Wochen alle ihre Organe fertiggestellt und es erfolgt nun noch ein bedeutendes Größenwachstum. Die reife Gregarine erreicht eine Länge von etwa $60\text{--}80\ \mu$ und darüber.

Bei dieser Darstellung habe ich das Verhalten des Kernes gar nicht berücksichtigt, und doch hat auch er ohne Zweifel in gewissem Sinne Teil an der geschilderten Entwicklung: das scheinen wenigstens die bemerkenswerten Wanderungen, denen er sich gleichzeitig unterzieht, zu beweisen. Bei *Pterocephalus* sind sie nicht nachgewiesen, dagegen in hervorragender Weise bei den Gattungen *Gregarina* und *Stylorhynchus*; der Kern verläßt seine ursprüngliche Lage beim Beginn der Entwicklung, um zuerst ganz in den vorderen Pol der Sporozoiten zu rücken: während er dann gewissermaßen in zwei Etappen zurückkehrt, wird jedesmal kurz nach dem Verlassen des betreffenden Körperteils das dahin gehörige Organ gebildet: liegt er wieder am distalen Pol, so ist Epimerit, Protomerit und Deutomerit fertig. In ganz ähnlicher Weise, wenn auch nicht so ausgeprägtem Maße, ist auch bei *Echinomera* der Kern an der Differenzierung der betreffenden Körperabschnitte beteiligt.

Es wurde bereits erwähnt, daß der Kern im Sporozoiten von *Echinomera* ganz am distalen Pol liegt: das ist nach den neueren Forschungen für alle polycystiden Darmgregarinen als ein recht charakteristisches Merkmal anzusehen, denn es hat sich bisher nur eine einzige Ausnahme davon gefunden in *Stylorhynchus longicollis*. Er bleibt bei unserer Form dort ziemlich lange liegen, entsprechend der späten Ausbildung des Epimerits: erst am Beginn der zweiten Woche (Fig. 5, Sporozoit im Alter von 185 Stunden) sieht man, wie der Kern plötzlich seine Gestalt und Lage verändert. Ich konnte häufiger beobachten, wie zunächst eine pseudopodienartige Ausstülpung nach der Anheftungsstelle des Sporozoiten zu erfolgt, worauf dann die Wanderung aus dem distalen Pol heraus vor sich geht — gleichzeitig mit dem Erscheinen der ersten Anlagen des Epimerits. Ist er ganz fertig, so findet man den Kern auch wieder auf der Rückwanderung begriffen (Fig. 8). Und noch ein zweites Mal tritt er die Wanderung nach unten an, wie Fig. 9 deutlich zeigt, bis zur Einschnürung des Gregarinenkörpers, die die Ausbildung des Protomerit-septums im Inneren andeutet. Im ganzen späteren Leben des Tieres hat er seine beständige Lage ungefähr in der Mitte des Deutomerits.

2. Entstehung des Karyosoms.

Für das Studium der inneren Struktur des Sporozoitenkernes ist *Echinomera* trotz der Kleinheit einigermaßen günstig: wenigstens zeigt er nicht, wie das die meisten der von LÉGER und DUBOSQ untersuchten Sporozoiten tun, im ersten Stadium eine völlig kompakte

und undurchsichtige Lagerung des Chromatins; bei diesen Formen soll die Bildung der normalen Kernform in der Weise erfolgen, daß die chromatische Substanz sich zunächst in zwei Kalotten an die Kernpole lagert, wobei auch das nach Ansicht jener Forscher vorher verdeckte Karyosom hervortritt. Dann erst nimmt das Chromatin die typische wandständige Lagerung an. In solch scharf angesprochener Weise zeigen das aber die Figuren der Autoren nicht, vielmehr nähern oder entfernen sie sich mehr oder weniger dem beschriebenen Typus — ich möchte speziell auf *Stylorhynchus* hinweisen. Wesentlich ist jedenfalls die Annahme, daß das Karyosom präformiert sei, der als die erste eine Beobachtung BERNDT (1902) bei *Gregarina cuneata* entgegensteht.

Bei *Echinomera* zeigt der Kern der Sporozysten von Anfang an eine wandständige Lagerung des Chromatins, so daß man sein Inneres deutlich übersehen kann, und es ist nichts von einer ursprünglichen Anwesenheit des Karyosoms zu erkennen (Fig. 1). Vielmehr verläuft seine Entstehung in folgender Weise: im Anfang sieht man an einer beliebigen Stelle des wandständigen Chromatins eine kleine Verdickung auftreten (Fig. 1, 2), der sich vom Innern des Kernes aus ein winziges, aber deutlich erkennbares helles Bläschen anlegt. In dies hinein wandert das Chromatin der Verdickung in einzelnen Bröckchen, bis es schließlich ganz kompakt und intensiv schwarz färbbar geworden ist; dann verläßt es die seitliche Lage und rückt in die Mitte des Kernes (Fig. 4, 5). Es liegen nur wenige Beobachtungen vor, die sich mit dieser Methode der Karyosomentstehung vergleichen ließen, und das sind die vereinzelt Untersuchungen an Sporozysten der Coccidien, die in der Regel, solange sie frei sind, kein Karyosom besitzen; nach SCHAUDINN (1900) soll der Vorgang in den Sporozysten von *Coccidium schubergi* in der Weise erfolgen, daß ebenfalls, aber central, ein helles Bläschen auftritt, in das das Chromatin dann einwandert — ähnlich wie bei *Cyclospora caryolytica* nach SIEDLECKI. Dann bemerkte neuerdings TH. MONOFF (1906) einen analogen Vorgang in den Merozoysten von *Adeia zonula*, allerdings im Plasma, aus dem das Karyosom nachher in den Kern wandert.¹⁾

Wesentlich und von Bedeutung ist jedenfalls die Tatsache, daß das Karyosom nach obigen Beobachtungen aus typischem Chroma-

¹⁾ Eine wesentliche Bestätigung meines Befundes scheint dagegen in der Entstehung des Karyosoms bei den zu Geschlechtstieren heranreifenden Schizonten von *Aggregata* (nach einer jetzt erschienenen vorläufigen Mitteilung TH. MONOFF's) zu finden zu sein: sie verläuft fast genau in derselben Weise wie bei *Echinomera*.

tin entstehen kann; die Substanz des hellen Bläschens wird Linin oder Plastin sein.

Über das weitere Verhalten des Kernes wäre zu bemerken, daß das Chromatin außerhalb des Karyosoms immer mehr verschwindet (Fig. 7), letzteres dagegen an Größe ständig zunimmt, so daß LÉGER und DUBOSCQ mit ihrer Ansicht recht zu haben scheinen, daß schließlich das gesamte Chromatin des Kernes vom Karyosom aufgenommen würde. Das Kernnetz wird sekundär gebildet, indem nachher das Karyosom rückläufig einen Teil des Chromatins wieder abgibt; es ist aber trotzdem auf den meisten Stadien in seine unmittelbare Nähe gelagert (Fig. 8, 9, 10, 13, 17, 18).

3. Vermehrung der Karyosome.

Eine noch nicht entschiedene Streitfrage ist die Vermehrung des Karyosoms, da es bei vielen Gregarinen, auch *Echinomera*, in ziemlich großer Zahl auftreten kann. Bei *Stylorhynchus* sprechen die französischen Forscher von einer Entstehung durch Knospung und darauf folgenden Abschnürung, einer Ansicht, der ich mich für *Echinomera* nicht anschließen kann, vielmehr sieht man oft (Fig. 11, 13), wie im Innern des großen Einzelkaryosoms die helle Grundsubstanz wieder mehr hervortritt, das vorhandene Chromatin sich zu Kugeln zusammenballt und schließlich austritt, wobei der farblose Restkörper mehr oder weniger vom Chromatin befreit zurückbleibt (Fig. 13). Die so entstandenen Karyosome selbst können sich dann wieder in ähnlicher Weise verhalten (Fig. 9), wodurch ihre Zahl manchmal ziemlich groß wird. Überhaupt muß man sagen, daß das Gesamtbild des Kernes in dieser vegetativen Periode in hervorragender Weise durch das Karyosom beherrscht wird, und es ist außerordentlich wechselnd je nach dem Ernährungszustand der Lithobien selbst, von dem es in bedentender Weise abzuhängen scheint. Die beschriebene Methode der Karyosomvermehrung entspricht am meisten noch der von W. S. MARSHALL (1892) bei *Gregarina blattarum* vermuteten.¹⁾

5. Plasmaeinschlüsse.

Hinweisen möchte ich noch auf die verschiedenartigen chromatischen Einschlüsse des Plasmas. Sie sind auch bei anderen Grega-

¹⁾ Ausstößungen von kugelförmigen Körpern aus dem alten Karyosom, das dabei vakuolisiert wird, aber immer noch durch seine Größe hervorragt, sind von LÉGER u. DUBOSCQ auch bei *Pterocephalus* beschrieben, aber die Abkömmlinge werden nicht als Karyosome bezeichnet. Ähnliches ist jetzt von TH. MONOFF für die *Aggregaten* vorläufig mitgeteilt.

rinen nicht selten, z. B. *Stenophora*, *Didymophyes gigantea*, *Stylorhynchus* und anderen; *Gregarina maculata* (LÉGER) aus den Larven von *Olocrates gibbus* hat hinter dem Kern im Endabschnitt ihres Körpers konstant eine chromatoide Kugel liegen, die ihrer Größe nach einen zweiten Kern vortäuscht und der Form den Namen gegeben hat. Schon in den Sporoziten ist etwas Ähnliches nachgewiesen; bei den meisten von LÉGER und DUBOSCQ untersuchten Formen liegt, hier vor dem Kern, ein „Centrosom“, wie die Autoren es nennen. Es verschwindet freilich nachher unter der Menge anderer chromatischer Körnchen, wäre es aber ein Centrosoma, so müßte es auf einem bestimmten Stadium in den Kern hineinrücken, wie aus den Vorgängen bei der ersten Mitose zu ersehen sein wird. Diese „Centrosome“ sind bei den Sporoziten von *Echinomera* nicht nachzuweisen, wohl aber tritt unter anderem ein Gebilde auf, das die größte Ähnlichkeit mit der bei *Gregarina maculata* beschriebenen Kugel hat, aber etwas kleiner ist. Man sieht es zuerst auf Stadien, die etwa zwei Wochen alt sind (Fig. 8); es ist in der Regel in der Einzahl zu finden, aber konstant vorhanden, und liegt im Anfang neben dem Kern, nachher immer hinter ihm (Fig. 8, 9, 10, 17, 18), von einem hellen Plasmahof umgeben. Veränderungen sind an ihm insofern wahrzunehmen, als manchmal die gesamte chromatoide Substanz sich aus ihnen heraus begeben hat, aber in flüssig gelöstem Zustande, so daß es in der Umgebung nicht mehr nachweisbar ist (Fig. 18). In seltenen Fällen ist es in der Mehrzahl vorhanden, wie in Fig. 11 dargestellt, wo auch die Vakuolen ohne die dunkel färbbare Substanz eine bemerkbare Größe erreicht haben. LÉGER hält die Kugeln für Ausscheidungen des Kernes, nicht für Chromidien, ohne aber seine Ansicht zu begründen — vielleicht sind sie es dennoch, möglicherweise Sammelstellen für vegetative Chromidien: denn in den Fällen, wo ich sie nicht fand, war das ganze Plasma der Gregarine mit echten Chromidien fast überladen (Fig. 16). Man trifft solche Bilder oft und sie scheinen in engem Zusammenhang mit den Ernährungsverhältnissen des Wirtes zu stehen.

Im Protoomerit ist ähnliches festzustellen. Bei *Pterocephalus* sprechen LÉGER und DUBOSCQ direkt von einem „noyau protomérique“, der bei dieser Form konstant bis in die Cyste hinein vorkommt. Das ist bei *Echinomera* nicht der Fall, aber ständig kann man bei ihr im Protoomerit eine chromatoide Wolke finden, die meist in ihrem Inneren ähnliche Vakuolen erkennen läßt, wie sie im Deutoomerit vorkommen (Fig. 10, 11). Sie versorgt offenbar auch die fingerförmigen Fortsätze des Haftorgans, in denen regelmäßig eine mit

Eisen-Hämatoxylin stark färbbare Körnelung auftritt (Fig. 10, 11). Aufschluß über die eigentliche Bedeutung all dieser Substanzen könnten vielleicht Versuche mit verschiedener Ernährung der Wirtstiere geben, wozu die Lithobien sehr geeignet wären, da sie leicht wochenlange Hungerperioden zu überstehen vermögen.

6. Bewegung der Gregarine.

Es ist im Anfang bereits erwähnt, daß CRAWLEY (1902) bei seinen Versuchen über die Bewegungsrursachen der Gregarinen neben *Stenophora juli* auch *Echinomera* benutzte. Seine Beobachtungen widersprechen der bekannten Erklärungsweise SCHEWIAKOFF's (1894), werden aber von LÜHE in dessen zusammenfassendem Bericht (1904) für bedeutend plausibler als SCHEWIAKOFF's Theorie gehalten. CRAWLEY sah ebensowenig bei *Stenophora* wie bei *Echinomera* die ausgeschiedenen Gallertfäden, sondern nur unregelmäßige aus Tröpfchen bestehende Komplexe. Das konnte ich bei *Echinomera* bestätigen, und die angeschiedene Gallerte muß ebenso wie bei *Stenophora* stark elastisch sein, da man oft sieht, wie sie mit anhängenden Körnchen zum Hinterende der Gregarine zurückschnellt. CRAWLEY baut seine Bewegungstheorie auf beobachteten sehr kleinen seitlichen pendelnden Bewegungen des Vorderendes und Kontraktionen der Myoneme auf: es ist nach ihm ein aktives Vorwärtsschieben mittels eines auf die Unterlage nach rückwärts wirkenden Druckes der Myoneme.

Vielleicht ändert sich die beobachtete kontrahierende Tätigkeit der Myoneme in einer schnellen Wellenbewegung der Epicyststreifen, die bei *Echinomera* wie bei anderen Formen ausgebildet (Fig. 15), aber im Leben nicht zu sehen sind; zum Beweise führe ich einmal an, daß ich diese Wellenfigur auf flach getroffenen Längsschnitten manchmal beobachten konnte, vor allem aber, da diese Figuren eventuell Wirkungen der Konservierung sein könnten, folgende Tatsache. Verfolgt man die Bewegung des Tieres längere Zeit bei Ölimmersion, so sieht man, wie Körnchen der umgebenden Flüssigkeit, die durch die angeschiedene Gallerte hindurch ganz dicht bis an das Epicyst geraten sind, mit einer großen Geschwindigkeit an ihm bis zum Hinterende heruntergleiten — die Geschwindigkeit ist jedenfalls bedeutend größer als die der Gregarine selbst. Das läßt mit Sicherheit auf Bewegungsvorgänge am Epicyst schließen und ich möchte eben annehmen, daß dies längs verlaufende (transversale oder auch longitudinale) Wellenzüge sind, die aber noch sicherer nachgewiesen werden müßten. Die Bewegung an der Unterseite des Schnecken-

fußes ist vielleicht nicht ganz unähnlich: die SCHEWIAKOFF'sche Erklärung berücksichtigt ja auch gar nicht, weshalb eigentlich die so stark entwickelten Myoneme vorhanden sind.

II. Die Fortpflanzungsperiode.

Erst die Forschungen der letzten Jahre haben bei den Gregariniden eine Tatsache ans Licht gefördert, die bei der verwandten Gruppe der Coccidiiden schon länger bekannt war, nämlich eine sexuelle Differenzierung in der Geschlechtsperiode, die so weit geht, daß sie sich nicht nur in einer Anisogamie bei der Befruchtung ausprägt, sondern in einzelnen Fällen auch in der vegetativen Periode schon auf Grund morphologischer Merkmale eine Unterscheidung von Männchen und Weibchen gestattet. Ende des Jahres 1904 hat LÉGER zum erstenmal zusammenfassend darauf hingewiesen und unterdes ist noch allerlei Neues dazu gekommen. Zunächst die Vorgänge bei der Befruchtung: während bei den Coccidiiden die Befruchtung ausschließlich anisogam ist, haben sich bei den Gregariniden alle Übergänge von der Isogamie bis zur höchsten Anisogamie ergeben, und zwar in eigentümlicher Weise über die Familien verteilt; bei den Monocystideen scheint im allgemeinen Isogamie zu herrschen, doch zeigen sich nach BRASIL (1905) bei *Urospora lagidis* schon die ersten sicheren Andeutungen einer Verschiedenheit der Gameten, die bei den Pseudomonocystideen in *Schaudinnella* ziemlich weit geht. Bei den Polycystideen ist wiederum bei der niedrigsten Familie, den Gregariniden, Isogamie vorhanden, wenn auch nur zum Teil, denn bei einzelnen Formen behauptet LÉGER schon Anisogamie. Und wieder steigt die Verschiedenheit der Ausbildung der Gameten heran über die Stylorhynchiden zu ihrer höchsten Ausbildung in den Dactylophoriden.¹⁾ Auf die Formen der Gameten selbst werde ich später noch einzugehen haben.

Die Befunde, die nach LÉGER auf eine Sexualität der reifen Gregarinen hindeuten, scheinen in keinem rechten Zusammenhange mit den eben erwähnten Unterschieden zu stehen; gerade Formen,

¹⁾ Eine eigenartige Stellung scheint die digenetische Gattung *Aggregata* einzunehmen (nach einer vorläufigen Mitteilung von TH. MONOFF 1907), deren Vertreter anisogam sind und ebenfalls während der geschlechtlichen Vermehrungsperiode starke sexuelle Differenzen aufweisen. Die Verhältnisse sind aber nicht mit Sicherheit zu beurteilen, ehe nicht die definitive Arbeit erscheint.

die eine typische Anisogamie aufweisen, wie *Stylorhynchus*, lassen in den freien Gregarinen gar keine Unterschiede erkennen, und die isogame *Monocystis ascidia* läßt gleich von Anfang der sexuellen Entwicklung an ein verschiedenes Verhalten der Sporonten erkennen. Die Unterschiede bei dieser Form bestehen hauptsächlich in einer zu Beginn der Copulation erfolgenden Einsenkung des einen Tieres in das andere, das daun kappenförmige Gestalt annimmt; dasselbe ist bekannt von *Diplocystis clerei* und *Pterocephalus*. Unterschiede in den Darmgregarinen selbst, die eine sexuelle Differenzierung auf diesem Stadium schon erkennen lassen, sind bekannt von *Stenophora varians*, bei der sich kugelige und längliche Tiere unterscheiden lassen; bei *Aggregata vagans* ist der Primit stets größer als der Satellit, bei *Gregarina muniti* ist der Primit gelb gefärbt, der Satellit weniger, und bei *Pterocephalus* sind es muskelartige Stränge unter der Wand der vorderen Körperhälfte, die nach LÉGER das Männchen von dem Weibchen unterscheiden sollen. Das ist kurz das bisher Bekannte, und es ist hier zusammengefaßt worden, da der Entwicklungsgang von *Echinomera hispida* gerade wegen der hohen Ausbildung der sexuellen Differenzierung speziell in der Cystenperiode bemerkenswert ist, wie sich aber schon von vornherein nach der engen Verwandtschaft mit *Pterocephalus* erwarten ließ.

Sexuelle Unterschiede bei den Darmgregarinen von *Echinomera*.

Wenn die reifen Gregarinen ihr Epimerit resorbiert haben, kann man bei ihnen die äußere Form betreffende Unterschiede konstatieren, zwischen denen kontinuierliche Übergänge kaum aufzufinden sind, die auch nicht durch Veränderung der Gestalt auseinander hervorgehen. Die einen weisen eine ovoide Form auf, so etwa, daß der Durchmesser durch die Körpermitte etwa ein Drittel der ganzen Körperlänge beträgt, während die anderen ganz außerordentlich viel langgestreckter sind. Es ist mir nicht unwahrscheinlich, daß diese Unterschiede sexueller Natur sind — wie vorhin erwähnt, ist für *Stenophora varians* von LÉGER das gleiche vermutet.

Die Kopulationen je zweier Individuen, durch die die Fortpflanzungsperiode eingeleitet wird, gehen immer erst im untersten Abschnitt des Darmes vor sich, in der Weise, daß die Tiere sich mit den Protomeriten aneinander legen unter Abrundung ihres Körpers zu einer Halbkugel. Darin weichen sie von den meisten anderen Gregarinen ab, die sich bekanntlich mit entgegengesetzten Körperenden aneinander legen: an unsere Form schließen sich an *Pterocephalus*, die *Stylorhynchideu* und *Monocystis ascidia*; auch bei

Actinocephalus dujardini konnte ich dasselbe beobachten. Sofort nach dem Abkugeln wird die äußere Cystenhülle ausgeschieden, die bei *Echinomera* nur von einer sehr dünnen Gallerthülle umgeben ist im Gegensatz zu den meisten anderen Gregarinen. Für *Pterocephalus* stellte LÉGER bereits auf diesem Stadium die ersten sicheren Unterschiede zwischen Männchen und Weibchen fest, die in muskelartigen Schnüren unter der Anheftungsfläche des Männchens an das Weibchen bestehen sollen: bei *Echinomera* sind sie nicht vorhanden, oder ich müßte sie in schwachen Verdichtungen unter der Cuticula suchen, die aber auch in dem anderen Sporonten der Cyste vorhanden sind. Dagegen ist die stärkere Färbbarkeit, die das Männchen von *Pterocephalus* auszeichnet, auch für *Echinomera* zu finden, und zwar um so stärker, je älter die Cyste wird. Nennenswerte Unterschiede in Struktur und Reservestoffeinschlüssen des Plasmas sind kaum festzustellen.

Die Vorgänge bei der ersten Mitose.

Sofort mit der Encystierung beginnen sich auch starke Kernveränderungen bemerklich zu machen: zunächst scheint der Kern im Verhältnis zum Körper der Gregarine beträchtlich an Größe zuzunehmen, wohl durch Aufnahme von Flüssigkeit (Fig. 20, 21), die größten Veränderungen aber gehen an den Karyosomen vor sich, die in Fig. (20, 21, 29, 30) veranschaulicht werden sollen. Das Chromatin, das in ihnen vorhanden ist, ballt sich zum Teil zusammen, und verläßt in kleinen Kugeln das Karyosom, ein Vorgang, der in Fig. 20 schon ziemlich weit fortgeschritten ist. Die Kugeln werden im Kernsaft immer kleiner und sind bald nicht mehr von dem Chromatin zu unterscheiden, das in sehr spärlichen Mengen bereits dort vorhanden war (Fig. 20). Ganz entleert werden die Karyosome aber in der Regel nicht, vielmehr sieht man immer noch einige wenige, die mit HEIDENHAIN'schem Hämatoxylin ganz schwarz gefärbt werden, und in den meisten anderen haben sich die letzten Reste von Chromatin wandständig gelagert. In ihnen treten auch bereits Vakuolisierungen auf. Recht eigentümlich ist ihr weiteres Verhalten, das für *Echinomera* spezifisch zu sein scheint, denn ich konnte bei anderen Gregarinen nichts Analoges auffinden. Es sammeln sich nämlich die Restkörper der Karyosome sämtlich in einen einzigen großen, wobei es ganz den Anschein hat, als ob sie aus tropfbar flüssiger Substanz beständen, denn ganz in Form eines zähen Tropfens ziehen sie sich beim Hinübertreten in den großen Restkörper in die Länge, um in ihn hineinzufließen (Fig. 21). Dabei tritt die Vakuoli-

sierung immer mehr hervor und erreicht schließlich einen so hohen Grad, daß der Restkörper nur noch aus Vakuolen zu bestehen scheint, die sich bedeutend heller färben als die Grundsubstanz; auch sieht man häufig in ihnen einige wenige kleine tiefschwarze Körnchen auftreten.

Das sind alles einleitende Prozesse für die erste Kernteilung, über die ich zunächst das bisher Bekannte angeben möchte: zu einem befriedigenden Resultat ist man trotz vieler Versuche bisher nicht gelangt, vor allem sind die Prophasen der Teilung innerhalb des großen Kernes selbst noch von keinem Forscher verfolgt. Die Gründe dafür erwähnt LÉGER in seiner Arbeit über *Stylorhynchus*, bei dem er in dieser Beziehung fast gar keine Resultate erzielt hat: die Cystenhülle, die gerade von dem Tiere ausgeschieden wird, hängt noch so fest mit dem Plasma zusammen, daß nur sehr wenige Versuche, sie anzustechen oder zu entfernen, ohne ein Zerplatzen der Cyste euden, und eine Konservierung mit der Hülle ist unmöglich, weil sie bereits jetzt für alle Flüssigkeiten fast undurchdringlich ist. Ein Ausweg, bei dem die Kerne aber sehr stark schrumpfen, ist die Konservierung durch Hitze, also heiße Flüssigkeiten, und Anstechen vor dem Einbetten.

Die bisherigen Ergebnisse¹⁾ lassen sich dahin zusammenfassen, daß CUÉNOT (1901) von *Monocystis* und *Dyplocystis*, PROWAZEK (1902) ebenfalls von *Monocystis*-Arten, und MŁĄZEK (1899) von einer Gregarine aus *Rhynchelmis* übereinstimmend berichten, daß die erste Mitose ausgeht von einem kleinen hellen Bläschen mit chromatischem Inhalt, — dem Micronukleus CUÉNOT's — das neben dem Hauptkern liegt: darüber, ob und in welcher Form das Bläschen vorher im Kern selbst gebildet wird, vermögen sie sichere Angaben nicht zu machen, nur soll es nicht wahrscheinlich sein, daß es im Plasma gebildet wird, sondern es soll aus dem Kern heraustreten. Andererseits sahen SIEDLECKI (1899) bei *Monocystis ascidia* und SCHNITZLER (1905) bei *Gregarina ovata* nichts von einem solchen hellen Bläschen, sondern fanden die Spindel bereits im Kern, SIEDLECKI zuerst im Moment des Platzens der Kernmembran, SCHNITZLER schon vorher. LÉGER und DEBOSCQ (1903) konnten von *Pterocephalus* nur angeben, daß einzelne Chromatinteile im Kern wahrscheinlich in Form eines Fädchens angeordnet seien und die erste Teilung wohl mitotisch verlaufe.

¹⁾ Dabei sind die Arten nicht berücksichtigt, die zur Kernvermehrung die gänzlich verschiedene Form der endogenen multiplen Teilung anwenden, wie sie von CAULLERY u. MESNIL (1900) für *Scleridium* dargestellt und neuerdings (1907) in höchst interessanter Weise für die Mehrzahl der Vertreter der Gattung *Aggregata* von TH. MOROFF vorläufig mitgeteilt ist. Nur eine Art (das Weibchen von *Aggregata eberthi*) scheint sich an unsere Formen anzuschließen.

Bei *Echinomera* war ich so glücklich, die obigen Beobachtungen in gewisser Weise miteinander verknüpfen zu können, wenn ich auch nicht in der Lage war, den ganzen Vorgang lückenlos zu verfolgen. Auf dem Stadium nämlich, auf dem die Karyosome bereits völlig ineinander geflossen sind, fand ich im Innern des Kerns neben dem Restkörper ein Gebilde (Fig. 29), das ich wohl mit dem von CŮRNŮR, PROWAZEK und MRÁZEK immer außerhalb des Kernes gefundenen Bläschen identifizieren darf: es ist ebenfalls ein Bläschen mit scharf begrenzten Umrissen, aber außerordentlich zart, im Inneren mit geringen Mengen chromatischen Staubes und einzelnen größeren Brocken. Außerdem ist ihm direkt aufgelagert eine etwas dichtere und dunklere Partie von nicht ganz regelmäßiger Umrandung mit stark färbbarem Korn in seiner oberen Partie, wohl dem Centrosom, das wir in ähnlicher Form bei den späteren Teilungen kennen lernen werden. Eine zufällige Bildung kann dies Bläschen nicht sein, weil ich es auch in dem zweiten Kern derselben Cyste auffand, wenn auch etwas kleiner; und ich gehe wohl nicht fehl, wenn ich es als das Vorstadium zur ersten Mitose ansehe.

Diese Mitose, die auch mit den Größenverhältnissen des Bläschens übereinstimmt, also sehr klein ist im Verhältnis zum ganzen Kern, fand ich ebenfalls; aber die Kernmembran ist auf dem Stadium schon ganz aufgelöst, das vorhandene Chromatin ist mit dem Kernsaft in Form einer Wolke ausgetreten, wie ich es mehrmals sah, während der Restkörper noch ziemlich unverändert ist, aber ebenfalls in das Plasma zu liegen kommt, wo man ihn noch lange findet, ehe er ganz aufgelöst wird. Die jüngste Spindel, die ich auffand, lag in der chromatischen Wolke darin, zeigte sehr deutliche Centrosome mit Sphären, auf die ich bei den späteren Mitosen näher eingehen werde, gute Polstrahlungen und Spindelfasern: das Chromatin, in Form einer Äquatorialplatte angeordnet, zeigte die eigenartigen Verhältnisse, auf die H. PRANDTL (1906) in einer Arbeit über *Didinium nasutum* hinweist: bei diesem Infusor bilden sich die Chromosome erst in der Äquatorialplatte aus einzelnen kleinen Körnchen; so sind hier in der erwähnten Spindel auch die einzelnen Chromatinbrocken noch nicht zu den bei späteren Teilungen auftretenden typischen fünf Chromosomen zusammengefloßen (Fig. 30).

Es fällt ohne weiteres auf, — auch CŮRNŮR's Bezeichnung weist schon darauf hin — daß in der ersten Mitose des Kernes weitgehende Analogien zu den Kernverhältnissen der Infusorien vorliegen. Das helle Bläschen erinnert an den Mikronukleus, trotzdem es zunächst im Kern liegt, und der Karyosomrestkörper an den Makro-

nukleus: letzterer wird sogar in ähnlicher Weise wie der Restkörper während der Teilungen des Mikronukleus ins Plasma verflüssigt, und wie die Abkömmlinge des Mikronukleus am Ende den Makronukleus wieder reproduzieren können, so bildet hier bei *Echinomera*, wie wir sehen werden, jeder Tochterkern sein Karyosom auch wieder ans sich heraus, allerdings in prinzipiell verschiedener Weise. Sobald diese Verhältnisse im folgenden eingehender dargelegt worden sind, werde ich noch spezieller auf den eben beschriebenen Dimorphismus von Haupt- und Nebenkern einzugehen haben.

Die folgenden Mitosen.

Es ist wohl nicht wahrscheinlich, daß diese erste Mitose in ihrem weiteren Verlauf wesentlich von den folgenden abweichen wird, und so habe ich sie bei den erwähnten Schwierigkeiten der Untersuchung nicht weiter verfolgt, zumal ich bei den folgenden Mitosen wieder über ein sehr reichliches Material verfügen konnte. Die ersten zwei Tochterkerne habe ich aufgefunden und zwar kurz nach der Teilung; sie unterscheiden sich nicht von denen, die aus den folgenden Teilungen resultieren. Zu bemerken ist nur, daß sie, wie die nächsten Kerne auch, im Ruhestadium bis zu drei Karyosomen besitzen können; je zahlreicher aber die Kerne werden, desto weniger ist das der Fall, und schließlich, schon ehe die Kerne an die Peripherie gerückt sind, ist die Einzahl der Karyosomen ausnahmslos Regel. Hinweisen möchte ich gleich hier darauf, daß eine Unterscheidung zwischen somatischen und generativen Kernen, wie sie LÉGER für *Stylorhynchus* entdeckte, hier nicht durchführbar ist, denn Kerne von größerem Umfang mit mehreren Karyosomen treten nicht auf, auch ist überhaupt von degenerierenden Kernen nichts zu bemerken. Vor allem bleiben in der Schnelligkeit der Teilungsfolge keine hinter den anderen zurück, vielmehr ist gerade hier die außerordentliche Konkordanz der Teilungen sehr auffällig: ehe nicht sämtliche Kerne der einen Teilungsperiode sich geteilt haben, tritt die folgende nicht ein, und zeitlich fallen diese Perioden für die beiden Kammern der Cyste mit erstaunlicher Genauigkeit zusammen. Man kann sich des Gedankens nicht erwehren, daß irgend eine Beziehung zwischen den beiden Einzeltieren der Cyste doch stattfindet — wenn auch sicher nicht in Form einer Konjugation der Kerne — ohne daß sie einen Ausdruck findet wie z. B. in den Strahlungen im Innern der *Monocystis ascidiae*. Überzeugend in dieser Richtung wirkten auf mich unveröffentlichte Studien KORSCHOLT's über die Monocystideen des

Regenwurms, in deren Cysten sehr auffällige Verlagerungen der ungeteilten Kerne zu konstatieren waren.

Daß die Teilungsvorgänge selbst von großem Interesse sein würden, ließ schon eine Figur, die LÉGER und DUBOSCQ über *Pterocephalus* davon gaben (1903), vermuten. Ich gehe zunächst auf die Centrosome ein. Bei *Pterocephalus* charakterisieren sie LÉGER und DUBOSCQ (1903) folgendermaßen: „.... présence d'un corpuscule central en forme d'un grain simple ou géminé, très petit et bien distinct de l'appareil conique sidérophile, dont l'ensemble a la valeur d'une sphère ou de la plaque polaire d'autres Protozoaires. Ce corpuscule se double dans le commencement de la télophase.“ Abbildungen sind nicht gegeben.

Bei *Stylorhynchus* erwähnt LÉGER (1904) Sphäre mit Centriol im Innern, bei *Gregarina ovata* SCHNITZLER (1905) nur das färbbare Körnchen; von vielen Bearbeitern werden „umfangreiche Sphären“ beschrieben, aber bemerkenswert ist, daß keiner von ihnen Centriolen im Sinne BOVERI's in diesen Sphären gefunden hat. Der einzige, der überhaupt näher auf die Morphologie der Centrosome eingegangen ist und sie abgebildet hat, ist BRASIL (1905) bei *Gonospora* und *Urospora*; an seine Beobachtungen schließen sich die meinigen bei *Echinomera* eng an. BRASIL faßt kurz in folgender Weise zusammen: „A l'un des poles du noyan un cône surbaissé porte à son sommet un centrosome punctiforme, ou mieux un centriole, d'où émanent de fines fibrilles radiales. Ce cône s'appuie sur sa base sur une volumineuse plaque polaire achromatique. Les phénomènes de division débntent par la duplication du centriole et du cône d'attraction. Les deux appareils s'éloignent l'un de l'autre en glissant sur la surface nucléaire.“ Dieser „cône d'attraction“ rundet sich nach der Teilung ab und an seiner Peripherie liegt polwärts immer das Centriol; daher ist BRASIL im Zweifel, ob er, wie in den angeführten Worten LÉGER und DUBOSCQ tun, diesen conus als Sphäre bezeichnen darf.

Bei *Echinomera* kam ich zu folgendem Resultat, das ich an Mitosen der vier oder fünf ersten Teilungsperioden erhielt: die „cônes d'attraction“ sind sehr stark ausgebildet und liegen in einer Delle des ruhenden Kernes: die Centriolen, die BRASIL, LÉGER und DUBOSCQ als kleine stark färbbare Körner bezeichnen, konnte ich als Bläschen mit chromatischen staubförmigem Inhalt erkennen, der sich zum Teil auch in dem Attraktionskonus vorfindet. Vor allem lag aber dies Bläschen in keiner Weise in letzterem darin, sondern war ihm deutlich abgesetzt aufgelagert (Fig. 31, 33). Dieser ganze

Apparat teilt sich dann, im Gegensatz zu den Beobachtungen bei *Ptercephalus* und übereinstimmend mit BRASIL, auf dem noch ruhenden Kern, um dann auf seiner Peripherie an entgegengesetzte Pole zu gleiten (Fig. 32). Bei großen Mitosen (Fig. 35) ist, wenn die Chromosome etwa noch in der Äquatorialplatte angeordnet sind, das centrosomatische Bläschen immer noch in seiner alten Struktur ungeteilt zu erkennen, während die Sphäre meist ganz schwarz gefärbt ist, nach unten hin keine Kontur mehr zeigt, sondern hier die Spindelfasern allmählich in sich verschwinden läßt. Die hier beschriebene Natur der centrosomatischen Gebilde gibt BRASIL vollends darin Recht, den Attraktionskonus nicht als Sphäre zu bezeichnen. Über die Permanenz des Centrosoms gibt keiner der genannten Forscher etwas an: ich habe von der ersten Teilung an bis zur Bildung der Gameten von keinem ruhenden Kerne behaupten können, daß ihm das Centrosom fehle, möchte also für *Echinomera* wenigstens die Permanenz annehmen.

Die herangezogenen Angaben über die Centrosomverhältnisse der Gregarinen beziehen sich, wie man bemerkt, hauptsächlich auf die Formen, bei denen die Mitose vorherrscht. Über andere Formen war bisher fast gar nichts bekannt, bis jetzt die schon erwähnten Mitteilungen TH. MONOFF's bei der Gattung *Aggregata* die interessantesten Aufschlüsse versprechen. Zum Beweise führe ich am besten die eigenen Worte MONOFF's aus seiner vorläufigen Mitteilung (1907) an:

„Wir begegnen Formen, wo ein Körnchen die Funktion eines Centrosoms übernommen hat; dasselbe bleibt während der Teilung im Kern und verhält sich wie das Nukleocentrosom von *Euglena* und *Adelea zonula* (KEUTEN-MONOFF).

Bei anderen Arten sieht man das betreffende Centrosom (Centriol) in Form eines Stäbchens, das über den Kern wie der Stiel einer Birne mit seinem größten Teil nach außen vorragt, wieder bei anderen Arten ist ein typisches Centriol vorhanden, wie es bei den Metazoen nicht besser ausgebildet zu sein pflegt. Soviel ist sicher, daß die Centriolen ihre Entstehung überall aus dem Kern nehmen. Bei manchen Arten wird die Polstrahlung vom achromatischen Netz des Kernes, bei anderen vom Plasma selbst geliefert.“

Die Teilungen selbst vollziehen sich in folgender Weise: im Anfang ist in den ruhenden Kernen das Chromatin zum größten Teil wandständig gelagert, die vorhandenen Karyosome finden sich fast immer an dem dem Centrosoma entgegengesetzten Pole des Kernes. Sofort wenn nun der Attraktionskonus sich geteilt hat, beginnt das Chromatin sich in Fäden anzuordnen, die immer länger werden und sich durch das ganze Kerninnere hindurchwinden. Es scheint nicht der Fall zu sein, daß alle sich in einen einzigen Faden vereinigen, denn an der Basis des Konus sieht man immer mehrere freie Enden dicht anliegen (Fig. 36). Je mehr nun die Centrosome auf der Kernmembran an die Pole gleiten, desto mehr knäueln sich die Fäden in

der Äquatorialplatte zwischen ihnen zusammen; außer den Polstrahlungen, die vorher schon vorhanden waren, sind nun auch deutliche Spindelfasern aufgetreten, bei den größeren Mitosen von erstaunlicher Stärke, so daß man sie ohne Mühe sogar zählen kann (Fig. 35). Sie scheinen sich gleichzeitig mit dem Zurückweichen der freien Enden der Chromatinfäden von der Basis der Attraktionskonen zu bilden, vielleicht mit ihrer Hilfe. Der dichte Knäuel der Fäden zerfällt, indem sie sich stark verkürzen und verdichten, in die einzelnen Chromosome, die sich peripherisch anordnen (Fig. 37). Die Verkürzung der Fäden geht nicht sehr schnell vor sich, denn noch lange sieht man einzelne freie Enden der Fäden weit in das Kerninnere hineinragen; schließlich jedoch verkürzen sie sich alle bis auf einen, auf den ich nachher zurückkomme, und zwar so stark, daß sie ganz dicht aneinander gedrängt und meist nicht mehr zu zählen sind. An günstigen Querschnitten, wie Fig. 37, konnte ich ihre Zahl deutlich auf fünf feststellen, wie sie auch in den Tochterplatten großer Mitosen zu erkennen ist. Trotz der vielen Bearbeitungen von Gregarinen ist die Zahl der Chromosome nur bei wenigen angegeben; ich stelle sie in folgender Tabelle zusammen.

Art	Chromosomenzahl
<i>Stylorhynchus longicollis</i>	4
<i>Gregarina ovata</i>	4
<i>Urospora lagidis</i>	4
<i>Gregarina</i> aus <i>Rhynchelmis</i> (MRÁZEK)	4
<i>Pterocephalus nobilis</i>	5
<i>Echinomera hispida</i>	5
<i>Monocystis</i> aus <i>Lumbricus</i> (nach CUVENOT)	8?
<i>Aggregata jacquemeti</i> (nach MOROFF)	8?

Es fällt bei *Echinomera* und *Pterocephalus* die ungerade Zahl der Chromosome auf, die bei den anderen Formen nicht statthat, sie ist bedingt durch das Auftreten des sogenannten „axialen“ Chromosoms, wie es LÉGER und DUBOSCQ bei *Pterocephalus* nannten, wo sie es 1903 entdeckten, aber nicht näher auf seine Bedeutung eingingen. Bei *Echinomera* ist es, wie vorhin schon angedeutet und in Fig. 37, 38 gut zu erkennen, bereits in der Äquatorialplatte dadurch bemerkbar, daß eins der Chromatinfädchen sich nicht verkürzt, sondern weit in das Kerninnere hineinragt, sich dabei sogar etwas

nm das neben der Äquatorialplatte liegende Karyosom herum-schlingt. Es bilden sich dann die Tochterplatten, wobei aber wegen der dichten Aneinanderlagerung der vier gewöhnlichen Chromosome nur schwer festzustellen ist, welchen Teilungsmodus sie einschlagen, wahrscheinlich wie bei *Urospora lagidis* und *Stylorhynchus* die gewöhnliche Längsspaltung, wobei die vier freien Enden der beiden Tochterchromosome zuletzt auseinanderweichen: bei dem „axialen“ Chromosom ist der Vorgang leicht zu verfolgen und verhält sich abweichend (Fig. 39). Es wird an einem Ende beginnend längs auseinandergespalten, und zwar, wie bemerkt werden muß, zeitlich nach der Teilung der anderen Chromosome: wenn diese schon weit zu den Tochterplatten auseinandergerückt sind, hängen seine beiden anderen Enden in der Mitte noch immer zusammen. Das ist bedingt durch seine große Länge, die etwa das Vierfache der gewöhnlichen Chromosome erreicht, und damit hängt wohl auch die weit übernormale Länge der ganzen Spindel zusammen, trotzdem, wie Fig. 44 zeigt, die Tochterplatten auch dann noch weiter auseinanderrücken, wenn das „axiale“ Chromosom bereits längs geteilt ist.

Das Verhalten der alten Kernmembran bei der Mitose ist insofern ein höchst eigenartiges, als sie so lange die Kugelgestalt beibehält, bis die Äquatorialplatten gebildet sind, manchmal sogar noch länger: und zwar nm so länger, wie es scheint, je weiter die Vermehrung der Kerne fortschreitet. Sogar wenn die Spindel schon fast durchgeteilt ist, kann man Spuren der alten einhüllenden Kernmembran erkennen, die hier gewissermaßen die Rolle von Mantelfasern spielen. Die Spindelbildung ist demnach auch bei den Tochterkernen als eine ziemlich weitgehende intranukleäre zu bezeichnen.

Ehe ich fortfahre, möchte ich kurz einige Bemerkungen anfügen über die Berechtigung des Namens „axiales“ Chromosom. LEGER und DUBOSCQ nannten es deshalb so, weil sie bei *Pterocephalus* der Ansicht waren, daß es nicht in die Peripherie des Chromosomenkreises eingeordnet sei, sondern in der Achse der Spindel liege. Das ist bei *Echinomera* nicht der Fall: es ist sogar durch die einseitig periphere Lage des langen Chromosoms eine eigentümliche Abweichung der Spindelachse von der geraden Linie gegeben. Stellt man sich die Wirkung der Centrosome so vor, daß sie einen Zug ausüben, so muß der einseitige Widerstand des sich erst später teilenden Chromosoms bewirken, daß die Tochterplatten ihre Ebenen in einen bestimmten Winkel zueinanderstellen. Wenigstens möchte ich mir so die ständig auftretende Verbiegung der Spindelachse (Fig. 44. 45)

und die eigentümliche Lage der Tochterkerne erklären (Fig. 46). Den angeführten Tatsachen gemäß werde ich im folgenden den Namen „unpaares Chromosom“ anwenden.

Es ist noch darauf hinzuweisen, daß dies unpaare Chromosom auf den ersten Blick unbedingt an die sogenannten „accessorischen“ Chromosome, wie sie in immer weiterem Umfange bei den Vorgängen der Samenreifung der Arthropoden nachgewiesen werden, erinnert, speziell an die Fälle, in denen es in der Einzahl auftritt. Als Beispiele erwähne ich die accessorischen Chromosome von *Lithobius forficatus* nach TÖNNIGES, *Orphanina deuticauda* nach DE SIXÉTY, *Locusta viridissima* nach OTTE, der im hiesigen Institut mit Untersuchungen über die Spermatogenese dieser Form beschäftigt ist. Diese Chromosome haben mit dem unpaaren Chromosom von *Echinomera* das Gemeinsame, daß sie sich in der Größe bedeutend von den anderen Chromosomen unterscheiden und daß sie in der Teilung zeitlich hinter ihnen zurückbleiben. Über diese formelle Ähnlichkeit geht es aber wohl nicht hinaus, denn einmal sind diese Chromosome bisher nur in den Samenzellen nachgewiesen worden, und andererseits sind sie vor allem dadurch charakterisiert, daß sie die Teilung von den Spermatocyten II. Ordnung zur Spermatide nicht mitmachen, also immer nur in je eine Spermatide überwandern: beides ist, wie späterhin nachgewiesen werden wird, bei dem unpaaren Chromosom von *Echinomera* nicht der Fall.

Ehe dies Chromosom geteilt wird, ist in der Teilungsstelle oft eine kleine kugelige Verdickung (Fig. 41) zu erkennen, wie sie auch LÉGER und DUBOSCQ bereits in ihrer Figur für *Pterocephalus* darstellen. Sind dann die Tochterplatten weit genug auseinandergerückt, so bilden sich die Tochterkerne, auf die ich näher eingehen werde, nachdem ich das Verhalten eines anderen Organs des Kernes während der Mitose behandelt habe.

Es wird aufgefallen sein, daß bereits mehrere Male für die Tochterkerne die Anwesenheit des Karyosoms erwähnt wurde, trotzdem bei der ersten Mitose die Karyosome nach Abgabe von Substanz in den Restkörper zusammengefloßen und ausgeschieden sind. Wenn sie trotzdem wieder in jedem Tochterkern regelmäßig auftreten, so müssen sie neu entstehen: und diese Neuentstehung findet nicht nur nach der ersten Mitose statt, sondern, wie ich verfolgen konnte, in jedem Kern, der sich durch Mitose aus dem alten bildet. Der Vorgang ist in der Fig. 46, 47, 48 dargestellt und verläuft in folgender Weise: das erste, was ich bemerken konnte, war eine stäbchenförmige Ausstrahlung von Chromatin aus den Karyosomen eines großen Kernes

etwa in der vierten Teilungsperiode; die Karyosome waren in der Zweizahl vorhanden, das Chromatin zum größten Teil noch wandständig gelagert, aber der Attraktionskonus zeigte bereits die Polstrahlungen (Fig. 34). In Kernen mit einem Karyosom konnte ich das mit solcher Deutlichkeit nicht wieder auffinden. Dann teilen sich die Centrosome, die Äquatorialplatte wird gebildet und das Karyosom liegt völlig unbeteiligt neben der intranukleären Spindel, bis die Kernmembran unter dem Einfluß der Centrosome sich zu strecken beginnt und das Karyosom mehr und mehr in die Mitte zwischen die beiden Tochterplatten gerät. Es sieht ganz so aus, als ob die zähflüssige Masse nunmehr einem seitlichen Druck ausgesetzt würde, denn sie verläßt die Kugelgestalt und streckt sich manchmal ziemlich stark in der Richtung der Spindelachse (Fig. 44). Vor allem aber nimmt auch seine Größe dabei immer mehr ab (aus Fig. 44 ersichtlich durch das nebengezeichnete Karyosom aus ruhenden Kernen derselben Teilungsperiode). Schließlich ist es völlig verschwunden, und zwar ins Plasma verflüssigt; man kann zwischen den Tochterplatten höchstens noch manchmal eine fadenförmige Anordnung einzelner Körnchen wahrnehmen (Fig. 45).

Dann bilden sich aus jeder Tochterplatte und dem zugehörigen Attraktionskonus die Tochterkerne, in denen sehr bald wieder ein Karyosom zu erkennen ist. Es fragt sich, wie es entsteht.

LÉGER und DUBOIS vermuteten für *Pteroccephalus* bereits, daß es vielleicht aus dem unpaaren Chromosom gebildet würde; es gelang mir, das zu beweisen. Man kann beobachten (Fig. 46), wie sich die Tochterplatte nach der Durchteilung der mitotischen Figur dicht an die Basis des Attraktionskonus anlegt, wie die Kernmembran in Form eines Bläschens auftritt, und wie sich schließlich das unpaare Chromosom ganz dicht an diese Membran anlegt. Es wird dabei schnell dünner, auch wohl etwas länger, denn sein freies Ende liegt schließlich ganz an dem Pole des Kernes, der dem Attraktionskonus entgegengesetzt ist (Fig. 47); dann wird die Bildung des Karyosoms dadurch eingeleitet, daß sich an der Spitze des Chromosoms ein Kügelchen bildet, das am Ende die gesamte chromatische Substanz derselben aufnimmt, indem sie gewissermaßen hernunterfließt (Fig. 47). Auf den letzten Stadien (Fig. 48) ist diese Kugel nur durch ein sehr dünnes Fädchen mit der alten Tochterplatte verbunden, die aber inzwischen ebenfalls allmählich an der Kernmembran heruntergeflossen ist. So ist auch der neue Kern wieder mit einem Karyosom (Fig. 49) versehen, und der Vorgang wiederholt sich, wie gesagt, bei jeder Mitose. Es ergibt sich auch ganz natürlich, weshalb das Karyosom

immer entgegengesetzt dem Centrosom gelagert ist; LÉGER und DUBOSCQ stellen sich das so vor, als ob diese beiden Kernelemente gewissermaßen gleichnamig elektrisch seien, das Chromatin ungleichnamig, vielleicht um so einen Anschluß zu erhalten an die Theorie des Nukleocentrosomas bei dem Karyosom der Coccidien. Die Spindel eines großen mit zwei Karyosomen versehenen Kernes (Fig. 35) zeigt dieselben Verhältnisse, wenn auch das unpaare Chromosom in der Ansicht gezeichnet nicht so deutlich hervortritt. Rechts sind die beiden Karyosome als in der Auflösung begriffen zu erkennen: sie hatten ursprünglich dieselbe Größe wie die Karyosome aus den Kernen derselben Teilungsperiode in Fig. 33, 34.

Das wäre über die Vermehrung der Tochterkerne zu sagen; vergleicht man sie mit den Verhältnissen bei der ersten Mitose, so läßt sich eine gewisse Analogie zwischen beiden nicht verkennen. In jedem Falle geben zu Beginn der Teilung die Karyosome einen Teil ihrer chromatischen Substanz ab, der Restkörper bleibt während der Mitose untätig liegen und wird am Ende ins Plasma aufgelöst; die Teilung selbst verläuft mehr oder weniger intranukleär, bei der ersten Mitose zunächst ganz, was wohl bedingt ist durch die überwiegende Masse der während der ganzen vegetativen Periode aufgespeicherten Karyosombestandteile.

Ehe ich fortfahre, möchte ich kurz auf die Untersuchungen über das Verhalten des Karyosoms während der generativen Periode bei anderen Gregarinen eingehen. Es ist zunächst durchaus nicht der Fall, daß diese Vermehrung mitotisch vor sich gehen muß, vielmehr ist es erstaunlich, welche Mannigfaltigkeit in dieser Beziehung bei den verschiedenen Arten herrscht. Es ist vielleicht angebracht, hier, wo wir bei *Echinomera* die höchste bei Gregarinen vorkommende Differenzierung der Mitose vor uns haben, einen kurzen Überblick über diese Verhältnisse zu geben, zumal das bisher noch nicht geschehen ist — nur einmal (1900), soweit es damals möglich war, von CAULLERY und MESNIL in einer Arbeit über *Selenidium*, das die am tiefsten stehende Methode der Kernvermehrung aufweist.

Mitosen sind sehr häufig: man findet sie bei *Stylorhynchus longicollis* (LÉGER 1904), *Pterocephalus nobilis* (LÉG. und DUB. 1903), *Gregarina ovata* (SCHNITZLER 1905), *Monocystis ascidia* (SIEDLECKI 1899), den Monocystideen des Regenwurms (PROWAZEK 1902), der Gregarine aus *Rhynchelmis* (MRÁZEK 1899), und wohl auch bei der Pseudomonocystidee *Schaudinella henleae* (NUSSBAUM 1903). Die erste Abweichung davon wurde bei der Coelomgregarine der Grille *Diplocystis major* (CUENOT 1901) festgestellt: trotzdem Attraktionssphären

vorhanden sind, ordnet sich das Chromatin nicht in Chromosome, sondern wird einfach in einen Klumpen zusammengeballt und dann durchgeschnürt. Das ist die erste Andeutung einer Amitose, die in den Sporen derselben Form, auch *Monocystis ascidiae* (SIEDECKI 1899) ganz typisch auftreten soll. Amitose wurde auch beobachtet bei der Teilung der älteren Tochterkerne von *Monocystis ascidiae* und es wird behauptet, daß die Amitosen um so typischer werden, je häufiger die Teilungen stattgefunden haben; gerade umgekehrt gibt Woodcock (1904) von *Cystobia irregularis* an, daß zuerst die Amitose vorherrschen soll und nachher allmählich übergehe in die typische Mitose. Vor allen Dingen sind erwähnenswert die verschiedenen Methoden der multiplen Kernteilung: man wird da mit CAULLERY und MESNIL eine exogene und endogene multiple Kernteilung zu unterscheiden haben, die erstere in typischer Weise allerdings nur bei Coccidien zu finden, aber angedeutet auch bei der Bildung des ersten generativen Kernes in *Schaudinella henleae*, wo sich der Vorgang in der Weise vollziehen soll, daß das Chromatin des alten Kernes in feinen Körnchen in das Plasma übertritt und aus einem derselben der neue Kern gebildet wird, während der alte degeneriert. Für die endogene multiple Teilung haben wir dagegen einen typischen Vertreter in *Selenidium* aus *Spio martinensis* (CAULLERY und MESNIL 1900): der Vorgang, der hier der ersten Mitose bei *Echinomera* entsprechen würde, hat so wenig Ähnlichkeit damit, daß er sich kaum noch vergleichen läßt. Das große Einzelkaryosom zerschnürt sich in viele kleine Teilstücke, wovon jedes einen Teil des Chromatins des alten Kernes um sich sammelt: so entstehen, man könnte vielleicht sagen, viele Mikronuklei im Hauptkern, der sich bandförmig streckt, schließlich aufgelöst wird und die kleinen Kerne entläßt. Diese selbst aber haben sich vorher noch amitotisch vermehrt. Diese Fälle der multiplen Kernteilung scheinen nach neueren Untersuchungen LÉGER's und DUBOSCQ's (1906), MOROFF's (1906, 1907) an Aggregaten bei den Gregarinen noch häufiger vorzukommen. Dabei ist aber zu bemerken, daß die hierher gehörigen Formen — früher in der Tat für Coccidien gehalten — eine Mittelstellung zwischen Gregarinen und Coccidien einzunehmen scheinen, denn sie besitzen nach den bis jetzt erfolgten kurzen Mitteilungen obiger Forscher eine Schizogonie in Crustaceen und eine geschlechtliche Periode in Cephalopoden. Von TH. MOROFF werden bisher bereits sieben verschiedene Typen der Kernteilung bei zwölf Arten der Gattung *Aggregata* behauptet.

Zu erwähnen wäre noch, daß sich auch die Merozoiten bei der Schizogonie der *Gonospora longissima* (CAULLERY und MESNIL 1898)

durch vorübergehende exogene multiple Kernteilung bilden sollen. Schließlich möchte ich des historischen Interesses wegen noch auf eine Bemerkung SCHAUDINN's, des Entdeckers der multiplen Kernteilung, hinweisen, in der er verspricht, multiple Kernteilung auch bei den Gregarinen des Lithobiusdarmes nachzuweisen (*Coccidium schubergi*, 1900).

Nicht minder mannigfaltig ist das Verhalten der Karyosome in den Geschlechtskernen: man kann da scharf zwei Gruppen unterscheiden, die sich auch, soweit man wenigstens jetzt zu erkennen vermag, einigermaßen der systematischen Gruppierung einfügen. Die einen besitzen in ihrem generativen Kern gar kein Karyosom mehr, es ist bereits verschwunden bei der ersten Mitose in der Cyste, die anderen dagegen verlieren es während jeder Mitose und besitzen es dann wieder in den ruhenden Kernen: und zwar scheint es, als ob die erstere Gruppe sich hauptsächlich aus den niederen Gregarinen zusammensetze; denn das völlige Verschwinden des Karyosoms nach der ersten Teilung ist bekannt vor allem von Monocystideen, so den *Monocystis*-Arten des Regenwurms, *Gonospora varia*, *Urospora lagidis* und *Monocystis ascidiae*. Wahrscheinlich gehört auch die Coelomgregarine *Diplocystis major* hierher, und in der niedersten Familie der Polycystideen, den Gregariniden, ist bei *Gregarina ovata* kein Karyosom in den Mitosen aufgefunden. In die andere Gruppe wären bisher nur drei Arten einzuordnen: am genauesten untersucht ist von ihnen *Stylorhynchus longicollis* von LÉGER. Bei dieser Form ist noch ein zweifaches Verhalten möglich: sind die Karyosome in der Mehrzahl vorhanden, wie in den somatischen Kernen der Cyste, so werden sie bei der Mitose zu gleichen Teilen auf die Tochterkerne verteilt, verschwinden also nicht, oder aber sie werden ins Plasma ausgestoßen und dort aufgelöst, wie das die Regel ist für das eine Karyosom der Geschlechtskerne. Jedenfalls sind sie in den Tochterkernen nach der Mitose immer wieder vorhanden, müssen also in den Fällen, wo sie aus dem Mutterkern nicht direkt übernommen sind, aus dem vorhandenen Chromatin neu gebildet werden. So vermutet wenigstens LÉGER. Die zweite Form ist *Pterocerophalus nobilis*, die sich wahrscheinlich an *Echinomera hispidum* anschließt, da auch bei ihr das unpaare Chromosom auftritt und das Karyosom während der Mitose verschwindet. Diese Form scheint neben *Echinomera* die einzige zu sein, bei der das axiale oder unpaare Chromosom auftritt, denn ich glaube nicht, daß BRASIL recht hat, wenn er es den Figuren PROWAZEK's nach auch bei *Monocystis* aus *Lumbricus* vermutet: das, was ihn dazu bewegt, sind wohl nur

stärkere oder spiralig gedrehte Spindelfasern. Und drittens endlich erwähnt MRÁZEK (1898) bei seiner Gregarine aus *Rhynchelmis*, daß das in der Einzahl vorhandene Karyosom während der Mitose aufgelöst wird. Die Chromosome sind bei dieser Form wie *Stylorhynchus* in der Vierzahl vorhanden und alle gleich ausgebildet — es hat sich also ein fünftes Chromosom, dem wie *Pterocephalus* und *Echinomera* die Aufgabe der Karyosombildung zukommt, nicht herausgebildet — vielleicht wird das noch von bestimmten Teilen jedes der vier Chromosome geleistet.

Verhalten der Syzygiten bis zur Gametenbildung.

Während der beschriebenen Kernvermehrungen gehen an den beiden Einzeltieren der Cyste höchst bemerkenswerte Veränderungen vor, die ganz den bei *Pterocephalus* von LÉGER und DUBOSCQ festgestellten analog sind.

Zunächst sind es Veränderungen in der Gestalt, die es ermöglichen, bereits vom Beginn der Kernteilungen an die Tiere voneinander zu unterscheiden, die später männliche und weibliche Gameten hervorbringen: man bemerkt gleich nach der Encystierung, wie das eine Tier — es ist das Weibchen — die Fläche, mit der es dem anderen anliegt, konvex nach außen hervorbuchtet, und wie sich das Männchen dieser Formveränderung immer mehr anpaßt, bis es schließlich ganz die Gestalt einer dem Weibchen aufgelagerten Kalotte annimmt. Das Weibchen selbst ist dabei etwas birnenförmig geworden und das schmalere Ende ragt in die männliche Kammer hinein (Fig. 23—27). Von einem Verschwinden oder Schwächerwerden der Umrisse der Einzeltiere ist an keiner Stelle etwas zu bemerken, man sieht sogar das flachgedrückte Protomerit mit seinem immer spärlicher werdenden chromatischen Inhalt manchmal noch ziemlich lange erhalten bleiben. Ebenso ist von einer radiär strahligen Anordnung des Plasmas in den Einzeltieren, wie es SIEDLECKI bei *Monocystis ascidiae* feststellte, nichts wahrnehmbar. Zu erwähnen ist, daß man neuerdings, nachdem die Annahme einer Kernkonjugation völlig widerlegt ist, die eigentümliche Aneinanderlagerung der Gregarinen in der Fortpflanzungsperiode, wie sie auch bei den Makrogameten und Mikrogametocyten der Coccidiengattung *Adelea* vorkommt, mit einer chemotaktischen Reizwirkung in Zusammenhang bringen will, die die Bildung der Gameten auslösen soll. Tatsächlich ist bei *Monocystis ascidiae* auch ein Austausch von Plasmabestandteilen im Beginn der Aneinanderlagerung entdeckt, und man kennt durch die Arbeiten von CAULLERY und MESSIL (1900) und NUSBAUM

(1903) jetzt alle Übergänge von Gametenbildung ganz freier Individuen, nur zeitweiser Zusammenlagerung, bis zur hohen Differenzierung der Cystenbildung bei den Dactylophoriden. Bei *Schaudinella henleae* ist sogar die Encystierung ganz beliebig von Männchen mit Männchen, Weibchen mit Weibchen oder Männchen mit Weibchen in einer Cyste nachgewiesen, die sich dann vor der Gametenbildung wieder trennen: da bleibt als Grund für die Encystierung nur die zeitweise Aneinanderlagerung übrig, und es ist sicher denkbar, daß vielleicht auftretende Diffusionsströmungen die Veranlassung zur Gametenbildung geben sollen. Für die höher differenzierten Formen ist aber der Hauptgrund wohl doch die Sicherung für das gegenseitige Auffinden der Gameten, die durch das Einschließen in eine Cystenhülle gewährleistet wird. Die Formveränderungen der Einzeltiere selbst, die oben für *Echinomera* beschrieben sind, werden bedingt, wie man bald erkennen wird, durch die spätere Ausbildung der sog. „Pseudokyste latéral“ zur Ansschleuderung der Sporen.

Die Kerne, die sich während des stark vermehrt haben — man kann zum Schluß ihre Anzahl auf etwa 2000 schätzen, was elf Teilungsperioden entsprechen würde — ordnen sich innerhalb der Syzygiten in gesetzmäßig bestimmter Weise an: nach den ersten Teilungen verbreiten sich die entstandenen Kerne regelmäßig über das ganze Innere beider Tiere (Fig. 23); der große Restkörper der Karyosome ist inzwischen ganz verflüssigt, und die Wolke chromatischen Staubes, die bei der Auflösung der ersten Kernmembran ins Plasma trat, hat sich über das ganze Innere verbreitet und sich schließlich als ganz ebenmäßige Schicht der Wand der einzelnen Syzygiten angelagert — sie könnte mit vollem Recht als ein vegetatives Chromidium betrachtet werden (Fig. 23). Dahin folgen ihr etwa bei der achten oder neunten Teilungsperiode sämtliche Kerne nach, nur ganz ausnahmsweise sieht man einige vorher degenerieren. Bei vielen Gregarinen, z. B. Monocystideen und Gregariniden, teilen sie sich dort weiter und bleiben bis zur definitiven Ausbildung der Gameten liegen. Das ist bei *Echinomera* genau wie bei *Pteroccephalus* aber nur mit den männlichen Kernen der Fall, die weiblichen treten unter Vermehrung ihrer Zahl wieder ins Innere zurück und zwar in eigentümlichen faltenartigen Zügen (Fig. 25). Ihnen voraus gehen, wie es LÉGER und DUBOSCQ bei *Pteroccephalus* abgebildet haben, große Kugeln stark verdichteten Plasmas, die sich aus der Wandpartie gebildet haben; diese Kugeln lassen, wie bei *Echinomera* zu beobachten ist, einen Teil ihrer Substanz in die Züge der Kerne hineinfließen

— um so mehr, je weiter sie dem Zentrum zurücken. Dort angelangt vereinigt sich dann ihr Rest zu einer Hohlkugel, wie sie Fig. 25 im Schnitt zeigt. Aber auch sie verliert sich bald zwischen die Kerne. Diese teilen sich nunmehr zum letztenmal, wobei sich die großen Faltenzüge in einzelnen Partien über das Plasma verbreiten, und zwar innerhalb dieser Partien so, daß sich die Kerne nach der Teilung überall gewissermaßen in zwei Wänden gegenüberstehen (Fig. 26 und Fig. 50). Diese Kerne bilden dann die weiblichen Gameten, die männlichen Kerne haben sich unterdes an der Peripherie ebenfalls stark vermehrt und sind dabei sehr klein geworden, viel kleiner als die weiblichen.

Bildung der Eler.

Die Cyste gebraucht, um dies Stadium zu erreichen, von der Ausstoßung aus dem Darm an gerechnet, etwa 2—3 Tage, und zwar um so weniger, je wärmer es bei entsprechender Luftfeuchtigkeit ist. Dann geht also die Bildung der Gameten vor sich, zunächst der weiblichen, die etwas früher fertig sind als die männlichen. Ihre Entstehungsweise, speziell die Entwicklungsmechanik, die Lage der Teilungsebenen des Plasmas betreffend, zeigt ganz interessante Verhältnisse, auf die ich kurz aufmerksam machen möchte.

Gehen wir zurück auf das Stadium, in dem die Kerne in den erwähnten faltenartigen im Anfang ungefähr radiär verlaufenden Zügen angeordnet sind, so kann man sich durch eine schätzungsweise Zählung vergewissern, daß nur eine Mitose jedes Kernes nötig ist, das letzte Stadium zu erreichen: durch diese Mitose wird ein solcher aus einer Lage von Mutterkernen bestehender Zug in zwei Züge vermehrt, die auseinanderweichen, bis sie sich an einen eben solchen von anderer Seite gebildeten dicht anlegen können. Der ganze Zug zerfällt dabei meist in kleinere, die sich in beliebiger Richtung orientieren können. So erklärt es sich, daß in der durch Zusammenlegung entstandenen Doppelwand von Kernen sämtliche Centrosome auf den nach innen gerichteten Polen der Kerne sitzen, also in den beiden Einzelwänden alle einander zugekehrt sind (Fig. 50 stellt bei a und a' zwei solche Doppelwände im Schnitt dar, wie sie in großer Anzahl auch in Fig. 26 zu sehen sind): wie teilt sich jetzt das Plasma um die Kerne ab, damit das Ei zustande kommt? Es ist klar geworden, daß die zwei Wände a und a' in Fig. 50 durch Teilung aus einer Wand von Mutterkernen entstanden sind, also ergibt sich eine Teilungsebene für das Plasma durch die bekannte entwicklungsmechanische Regel, daß sie senkrecht auf der

Achse der letzten mitotischen Figur stehen muß, in unserem Falle (Fig. 50, 51 bei d_1) mitten zwischen und parallel den beiden Wänden der Tochterkerne. Es soll nun erreicht werden, daß zur Bildung der Eier das ganze Plasma ohne Rest unter sie verteilt wird: das wird ermöglicht durch das Verhalten des Plasmas, das zwischen den Wänden der Doppelwand (Fig. 50, a oder a') ursprünglich eingelagert ist. Es tritt aus dem Zwischenraum zwischen den Einzelwänden hinter die Einzelkerne heraus, einen freien Raum lassend, dessen zickzackförmige Gestalt im Schnitt durch die streng alternierende Anordnung der einzelnen Kerne bedingt ist (Fig. 50 und 51 bei d_2). Ehe dann die Teilung bei d_1 (Fig. 50 und 51) ganz durchgeführt wird, vertiefen sich die kleinen zickzackförmigen Einschnürungen um jeden Kern herum (Fig. 51) bis zu ihr hin, und so sind in der Tat die Eier entstanden, ohne daß irgendwo nur eine Spur von Plasma zurückbleibt oder die Eier verschieden groß wären. Man wird annehmen, daß die Aufgabe mechanisch nicht ganz leicht ist, die gegebene Plasmamasse gleichzeitig in gleich große Teile zu zerlegen und weil es mir interessant erschien, die Lösung zu verfolgen, bin ich auf die Einzelheiten eingegangen.

Zu erwähnen ist noch, daß die Eier sich, wenn sie fertiggestellt sind, und von der Teilungsebene d_1 vorrücken, wiederum alternierend, wie vorher ihre Kerne lagen, zwischeneinander schieben — nach entgegengesetzten Richtungen über die Teilungsebene d_2 hinaus. Zweck ist die Verkettung der Sporen, auf die nachher eingegangen wird.

Das Ei selbst ist von cylindrischer Gestalt, an seinem einen Pol ist der Kern gelagert, während der andere zunächst noch etwas verdickt ist, sich aber bald walzenförmig abrundet (Fig. 52). Im Kern selbst ist mit aller Deutlichkeit das Karyosom bemerkbar und an seinem distalen Pol das Centrosoma, wie es scheint, immer noch dem Attraktionskonus aufsitzend. Das Chromatin ist wieder wandständig. Der ziemlich starke Größenunterschied der Karyosome in Fig. 50 und 51 ist nicht ganz typisch, da auch die Kerne etwas größer und überhaupt die Karyosome in verschiedenen Cysten verschieden groß sind. Trotzdem muß dahingestellt bleiben, ob nicht doch eine gewisse Verkleinerung des Karyosoms in den Eiern zustande kommt entweder durch Abgabe von Chromatin oder durch festere Zusammenlagerung. Die relativ große Plasmamasse des Eis ist stark wabig gebaut und es sind auf den Wabenwänden immer kleine durch Eisenhämatoxylin intensiv färbbare Körnchen verteilt.

Entstehung der Mikrogameten.

Beim Studium der Entwicklung der Mikrogametenkerne in dem männlichen Syzygiten selbst traten sehr unangenehme Mißstände in der Konservierung auf, die es mir — ganz abgesehen von der eminenten Kleinheit der Verhältnisse — unmöglich machten, die Genese ganz lückenlos zu verfolgen. Auf den letzten Stadien färben sich die Kerne, trotzdem die verschiedensten Konservierungsflüssigkeiten angewandt wurden, stets intensiv schwarz, ohne daß es möglich war, eine Differenzierung zu erzielen. Einigermassen annehmbare Resultate erhält man mit ZENKER'scher oder DUBOSCQ'scher Flüssigkeit. Sind aber die Kerne erst ganz aus dem Plasma des männlichen Tieres herausgetreten, so daß sich Strichpräparate herstellen lassen, so erhält man in folgender Weise auch für die Eier sehr brauchbare Resultate: Man zerdrückt die Cysten des betreffenden Stadiums in einem Tropfen der glashellen Körperflüssigkeit eines Mehlwurms, streicht ihn auf dem Objektträger etwas aus, und legt diesen dann möglichst schnell umgekehrt in eine Schale mit ZENKER'scher Lösung. Die Blutflüssigkeit gerinnt sofort und haftet auf dem Objektträger sehr fest, worauf man wie bei einem Schnitt verfährt.

Von der Entwicklungsweise der Eier unterscheidet sich die der Spermatozoen sofort dadurch, daß der Plasmakörper des Männchens fast völlig erhalten bleibt (Fig. 27), während der des Weibchens restlos in die Oogenese eingeht. Man sieht, wie schon erwähnt, die männlichen Kerne zunächst an der Peripherie des Männchens oft in mehreren Schichten übereinander gelagert, und ich konnte auf einem Cystenstadium, in dem die Eier fast der Vervollendung nahe waren, folgenden Bau erkennen (Fig. 62). Die Kerne sind im allgemeinen von rundlicher Gestalt, beginnen aber bereits etwas, sich in die Länge zu strecken; an dem einen Pol ist immer ein Körnchen erkennbar, das wohl ziemlich sicher als das Centrosom anzusehen ist: dafür spricht auch die Lagerung des Karyosoms, das ebenso wie bei den jüngeren Tochterkernen der Cyste das Bestreben hat, sich an den diesem Körnchen entgegengesetzten Pol des Kernes zu lagern. Das Karyosom selbst ist in den meisten Fällen von runder Gestalt, hat aber, wie das auch in Fig. 62 hervortritt, das Bestreben, sich ganz dicht an die Kernmembran anzuschmiegen, indem es sich dabei abplattet. Ganz verfolgen konnte ich das nicht, da sich in den folgenden Stadien das Kerninnere fast gar nicht mehr differenzieren läßt. Der Kern tritt dann aus dem Plasma des männlichen Tieres heraus, wobei er nur von einer ganz außerordentlich

dünnen Plasmahülle umgeben ist; in den meisten Fällen ist sie überhaupt nicht zu erkennen, höchstens als stärker lichtbrechende Membran. Das Stadium, auf dem meine Strichpräparate mir wieder Aufschluß über die innere Struktur geben, zeigt bereits die Gestaltung, wie sie in Fig. 64 a abgebildet ist: der Kern ist ziemlich längs gestreckt, in ihm ist das Chromatin in zwei Partien an die Pole verlagert, aber von einem Karyosom ist nichts mehr zu sehen. Man darf der Menge des vorhandenen Chromatins nach vermuten, daß es sich ganz unter das andere Chromatin aufgelöst hat. Dagegen ließen sich die Centrosomen wieder feststellen, und zwar, wie ich mit ziemlicher Sicherheit behaupten kann, in der Zweizahl an dem einen Ende des Mikrogameten: sie sind in den gezeichneten Stadien (Fig. 64 a—f) mehr oder weniger gut sichtbar. Zwischen ihnen hat sich eine kurze Geißel gebildet. Eine plasmatische Differenzierung am Vorderende in Form eines kleinen Rostrums (Fig. 67 d) war nur selten deutlich erkennbar. Je weiter das Spermatozoid in der Reifung fortschreitet, desto länger streckt sich auch der Kern, bis er schließlich ganz spindelförmig und an beiden Enden zugespitzt ist; dabei wird er seitlich etwas abgeflacht. Das Chromatin sammelt sich schließlich auch in der Mitte des Kernes an, aber wiederum eine hellere Partie vor und hinter sich freilassend (Fig. 67 f).

Was LÉGER und DUBOSCQ von den Spermatozoiden des *Ptercephalus nobilis* mitteilen konnten, ist von meinen Beobachtungen etwas, wenn auch nicht prinzipiell verschieden. Die Länge geben sie auf $7\ \mu$ an, während sie bei *Echinomera* höchstens $5\ \mu$ erreicht. Von Centrosomen ist nichts erwähnt, dagegen soll das Chromatin etwas anders angeordnet sein: in dem ziemlich stark abgeplatteten und nach einer Seite eingekrümmten, aber ebenfalls spindelförmig zugespitzten Kerne liegt es zu einem Teil auf der Dorsalseite, zum anderen auf der Ventralseite, und vor letzterem soll auch eine hellere Partie ähnlich den bei *Echinomera* vorhandenen zu erkennen sein. Das nach innen gebogene Rostrum an der Spitze ist überall deutlich. Interessant ist die Angabe, daß am lebenden Objekt eine undulierende Membran sichtbar sein soll. Meine Beobachtungen bei *Echinomera*, die ich nur an konserviertem Material vornahm, scheinen ebenfalls auf das Vorhandensein einer solchen Membran hinzuweisen: fast immer konnte ich (Fig. 64 a, b, c, e) in der nächsten Umgebung des Gameten eine hellere abgegrenzte Partie feststellen, die einer Membran nicht unähnlich war; das wird bekräftigt dadurch, daß ich die untere Geißel nie über das zweite Centrosoma hinaus zu verfolgen vermochte: vielleicht ist eben die Schwanzgeißel durch die undulierende

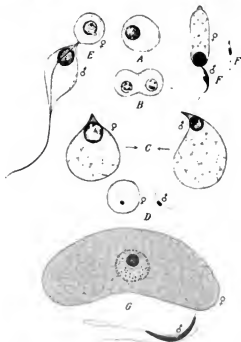
Membran ersetzt. Zu bemerken ist, daß auch LÉGER und DUBOSCQ von der unteren Geißel des Spermatozoids von *Pterocephalus* angeben, sie sei abgestumpft. Entscheiden kann ich aber nicht, ob ich mich nicht dadurch habe täuschen lassen, daß die helleren Partien um das Tier herum Abbildungen einer schlängelnden Bewegung vor dem Tode sind.

Die Befruchtung erfolgt dann in der Weise, daß die Spermatozoiden sich über das ganze Innere der weiblichen Kammer verbreiten und jedes in ein Ei eindringt. Manchmal sah ich, wie es mit seiner Spitze dem Plasmakörper anlag, und ein solches Stadium habe ich in Fig. 55 abgebildet, meistens aber scheint ein Eindringen des Spermatozoiden in den Kern des Eies direkt zu erfolgen. Daher möchte ich es für wahrscheinlich halten, wenn ich auch einen Mikrogameten im Plasma des Makrogameten selbst nie sah, daß wie bei *Pterocephalus* auch hier die Befruchtung von einer beliebigen Stelle aus erfolgen kann. Zum Schluß liegt der Kern des Spermatozoids immer als eine spindelförmige aufgelockerte chromatische Masse im Eikern darin, dessen Chromatin sich von der Wand zu entfernen und sich mit dem des männlichen Kernes zu vereinigen beginnt (Fig. 56).

Anf eine auffällige Tatsache möchte ich noch hinweisen, die Wanderung der Spermatozoiden aus der männlichen in die weibliche Kammer betreffend: es bildet sich nämlich um den männlichen Plasmakörper eine Hülle — entsprechend der Sporoduktenhülle der Gattung *Gregarina* —, auf deren Bedeutung ich nachher eingehe. Es ist interessant, daß diese Hülle in ihren ersten Anfängen bereits vorhanden ist, ehe die Spermatozoiden ganz reif sind: zum Zweck der Ausführung der Befruchtung muß sie also von ihnen durchbrochen werden. Ein Grund dafür ist vielleicht die Verhinderung der Verschmelzung von unreifen Elementen, die ohne sie an den Berührungstellen von Männchen und Weibchen dicht aneinander liegen würden. Trotzdem aber werden durch sie viele vielleicht etwas zu spät gereifte Spermatozoiden verhindert, an dem Befruchtungsprozeß teilzunehmen: man sieht sie dann in dichte Bündel geschart in Lücken des männlichen Körpers liegen, wo sie degenerieren (Fig. 63).

Das wäre der Geschlechtsprozeß bei *Echinomera*: zieht man den wahrscheinlich ganz analogen von *Pterocephalus nobilis* hinzu, so wird man sagen müssen, daß die Gregarinen in der Familie der Dactylophoridae eine Höhe in der Ausbildung anisogamer Befruchtungselemente erreicht haben, wie sie auch von den Coccidien nicht übertroffen worden ist. Weiter oben habe ich bereits kurz zusammengestellt, in welcher Weise nach dem bisherigen Stand der Unter-

suchungen Isogamie und Anisogamie über die Gregarinen verteilt sind, und möchte dem hier anschließen eine gedrängte Übersicht über den Bau der einzelnen Typen der Gameten, in die sich dann die bei den Dactylophoriden gefundenen Verhältnisse leicht werden einordnen lassen. Man wird erkennen, daß alle möglichen Übergänge



Textfig. 2. Verschiedene Gametenformen.

Fig. A—F. Zusammenstellung der Haupttypen der Gameten bei Gregarinen.

- | | |
|---|---------------|
| A. Einer <i>Monocystis</i> -Art des Regenwurms (nach CÉNOT) | } Isogamie. |
| B. <i>Gregarina ovata</i> (nach SCHNITZLER) | |
| C. <i>Urospora lagidis</i> (nach BRASIL) | } Anisogamie. |
| D. <i>Schaudinella henleae</i> (nach NUSBAUM) | |
| E. <i>Stylorhynchus longicollis</i> (nach LÉGER) | |
| F. <i>Pterocephalus nobilis</i> (nach DUBOSCQ u. LEGER) | |
| F'. Spermatozoid von <i>Echinomera hispida</i> | |

Fig. G. Anisogamie bei *Coccidium schubergi* (nach SCHAUDINN).

bis zu ihnen hin vorhanden sind: bei den *Monocystis*-Arten des Regenwurms (Textfig. 2A) ebenso bei *Monocystis ascidiae* und *Gregarina ovata* (B) ist die primitivste Isogamie festgestellt, indem die Gameten

beide einfach kugelförmig sind von gleicher Größe des Plasmas und des Kerns. Die erste Andeutung zur Anisogamie tritt bei *Urospora lagidis* (C) nach BRASIL auf: die Quantität des immer noch kugelförmigen Plasmakörpers ist bei beiden Geschlechtern ungefähr dieselbe, aber der männliche Kern ist bedeutend dichter gefügt und kleiner, und es bietet sich bereits eine Homologie zu dem Typus der Dactylophoriden darin (F), daß wie bei den Eiern dieser Familie auch die Kerne an einen Pol verlagert sind und an ihrer Spitze die Centrosome tragen. Noch weiter geht die Ähnlichkeit bei *Schaudinella henleae* (D), wo nun auch das Plasma schon in überwiegendem Maße dem Ei zugeteilt wird, das wieder kugelförmig ist; das Spermatozoid nähert sich bereits dem flagellatenähnlichen Typus, wenn sich auch der Kern noch nicht mitstreckt und die beiden Pole des Gameten ganz gleichwertig sind. Das ändert sich bei *Stylorhynchus* (E), indem bei den Spermatozoiden dieser Form wie bei *Pterocephalus* und *Echinomera* vorn das Rostrum und hinten die Geißel zu konstatieren ist: der Kern ist freilich ebenfalls noch rund, und eine ganz gegen die allgemeine Regel verstoßende Eigentümlichkeit der Gameten besteht darin, daß das bewegliche Spermatozoid eine größere Plasmamenge besitzt als das runde unbewegliche Ei. Um zu dem Spermatozoid von *Echinomera* überzuleiten, braucht man nur noch eine Streckung des Kerns anzunehmen: es geraten dann auch die Centrosome an ihre richtige Lage, da sie bei *Stylorhynchus* am hinteren Pol des Kernes zu zweien am intracellulären Schwanzfaden anliegend gefunden sind. Zum Vergleich der Größe und dem Bau nach habe ich auch die typischen Anisogameten des *Coccidium schubergi* bei derselben Vergrößerung in die Textfigur aufgenommen (G). Was vor allem bei den sieben dargestellten Typen auffällt, sind die riesigen Größenunterschiede, zumal in der Plasmaverteilung.¹⁾

Reifung der Makrogameten.

In welcher Weise bei den Gregariniden der Reduktionsprozeß vor sich geht, ist noch eine sehr umstrittene Frage: ob sie in der

¹⁾ Von höchstem Interesse werden in diesem Zusammenhange Untersuchungen TH. MONOV'S sein, die sich nach vorläufigen Mitteilungen auf die Gattung *Aggregata* beziehen. Bereits 1906 charakterisierte MONOV die Spermatozoide von *Aggregata jacquemati* (MONOV) dahin, daß sie (bei einer Länge von 50 μ und Breite von 1 μ) wie *Echinomera* eine undulierende Membran und eine Endgeißel besitzen sollen; der Kern nimmt etwa die Hälfte der Länge ein. Darnach scheinen auch die Spermatozoide wie die ganzen Formen überhaupt eine gewisse Mittelstellung zwischen Coccidien und Gregarinen einzunehmen.

starken Ausstoßung von Chromatin bei der ersten Mitose zu suchen ist, oder in Reduktion des Karyosoms während der Befruchtung, schließlich auch, ob das alles nicht viel mehr eine „Euration nucléaire“ nach SIEDLECKI als eine Reifungserscheinung ist, blieb bisher dahingestellt. Nur bei einer Form, *Gregarina ovata* ist von SCHNITZLER (1905) eine Reduktion durch Mitose festgestellt.

Ich möchte zunächst die bei *Echinomera* gefundenen Tatsachen anführen. Eine Reduktion durch Mitose an den Gameten selbst ist für *Echinomera* sicher nicht vorhanden, denn es wurde große Mühe darauf verwandt, den Entwicklungsgang des Eies ganz kontinuierlich zu verfolgen, was ja bei dessen Größe auch nicht schwer hält. Auch LÉGER und DUBOSCQ konnten das für *Pterocephalus* und *Stylorhynchus* mit ebensolcher Sicherheit behaupten, beschreiben dafür aber bei *Pterocephalus* eine ganz eigenartige „reduction cytoplasmique“: sie soll in der Weise vor sich gehen, daß, ehe die Befruchtung sich vollzieht, an dem plasmatischen Pol des Eies ein Tröpfchen Plasma sich abschnürt, ohne daß aber chromatische Substanz darin festzustellen wäre. Lange Zeit glaubte ich, daß auch bei *Echinomera hispida* derselbe Prozeß sich abspiele, denn ich besaß eine genügende Anzahl von Präparaten, die mir dieselben Bilder lieferten, wie sie LÉGER und DUBOSCQ geben; schließlich aber fiel es mir auf, daß sie auf Schnitten nie zu finden waren, sondern stets nur, wenn ich die Eier in einen Tropfen physiologischer Kochsalzlösung ansstrich und nach schwachem Räuchern in Osmiumsäuredämpfen antrocknen ließ. Ich zweifle nicht daran, daß das heranretende Tröpfchen eine Folge des Antrocknens des doch ziemlich umfangreichen Eies war; daß es am plasmatischen Pol austrat, ist dadurch erklärlich, daß hier die Eier am längsten miteinander zusammengehangen haben und also wohl am wenigsten widerstandsfähig sind.

Dagegen bemerkte ich, wie sich am Karyosom ein Vorgang vollzieht, der wohl eher für die Reduktionsfrage in Betracht kommt.

Zunächst kann man, wenn die kugelige Gestalt des Karyosoms allein nicht genügen sollte, es von anderem auftretenden Chromatin zu unterscheiden, in der Weise verfahren, daß man die Durchfärbung des Schnittes mit Eisenhämatoxylin sehr lange Zeit dauern läßt, und dann außerordentlich stark differenziert; man wird dadurch immer erreichen können, daß das Chromatin wieder völlig farblos wird, aber es wird schwer sein, dem Karyosom und dem Centrosom die Farbe überhaupt wieder zu entziehen. Auf diese Weise glaube ich erkannt zu haben, daß in den jüngsten Stadien der Eier das Karyosom immer in der Einzahl vorhanden ist (Fig. 52, 53), sich später

aber immer in mehrere — in der Regel drei — kleinere zersprengt findet: zwei der ebenfalls kugeligen Teile findet man fast immer im Kern (Fig. 55) und eines entweder im Plasma des Eies, in dem vorher chromatische Bestandteile von der Größe nicht vorhanden waren, oder auch frei zwischen den Eiern; jedenfalls waren an letzterer Stelle stark färbbare karyosomähnliche Kugeln immer auffindbar, wenn ich sie auch nicht direkt identifizieren konnte, da ich den Teilungsvorgang des Karyosoms selbst nicht verfolgen konnte. Ist die Befruchtung eingetreten, so sieht man auch von den runden Karyosomresten im Kern kaum noch etwas, wahrscheinlich haben sie sich in der Form dem übrigen Chromatin angepaßt (Fig. 55). Tatsache ist jedenfalls, daß in den nunmehr folgenden Stadien bis zum Sporozoiten hin ein Karyosom in der typischen Form nicht mehr auftritt, sondern, wie bereits beschrieben, erst im Darm des Wirtstieres wieder gebildet wird.

Einen entsprechenden Vorgang hat LÉGER auch für das Karyosom der Makrogameten von *Stylorhynchus longicollis* nachgewiesen: das im Anfang zentral liegende Karyosom rückt an die Kernmembran, die sich öffnet, und entsendet von dort aus ins Plasma einen Teil seiner Substanz durch Abschnürung. Eine typische chromatische Reduktion aber bestreitet er für diese Form ebenso wie für *Pterocephalus*. Hinweisen möchte ich darauf, daß man für *Echinomera* und *Pterocephalus* auch einen gewissen indirekten Beweis dafür führen kann, daß eine solche typische Reduktion, d. h. Halbierung der Zahl der Chromosome, während der letzten Teilungen bis zur Bildung des Eies nicht stattfinden kann: denn für diese beiden Arten ist die Zahl der Chromosome auf fünf erkannt, und da das unpaare Chromosom das Karyosom bildet, müßte die Hälfte der Gameten ohne Karyosom sein. Das ist aber nicht der Fall.

Um zu einiger Klarheit über die Frage der Reifung zu kommen, läge es sehr nahe, die Verhältnisse bei den Coccidien zum Vergleich heranzuziehen; denn einmal sind diese doch unzweifelhaften Verwandten der Gregarinen infolge günstigerer Bedingungen für das Studium viel genauer durchforscht und dann bieten sich in der Tat sehr brauchbare Vergleichsmomente. Es kommen für die Reifungsvorgänge eigentlich nur Anstoßungen von Karyosomen in Frage, genau von der Art, wie sie für *Echinomera* und *Stylorhynchus* beschrieben sind. Aber man hat auch bei den Coccidien eine Entscheidung noch nicht treffen können, vielmehr schwankt man — ebenso wie bei den Gregarinen selbst — noch zwischen den beiden Möglichkeiten, daß die Ausstoßung nur eine Kerureinigung (Euration

nucléaire nach SIEDLECKI) oder eine Reduktion sein kann. Jedoch ist darauf hinzuweisen, daß immer mehr eine Beziehung des Karyosoms zum typischen Chromatin der Kerne erkannt wird; man vergleiche die bereits erwähnte Entstehung des Karyosoms in manchen Sporozoiten, die interessante Regeneration des ganzen Kernes aus ihm bei *Caryotropha mesnili* (SIEDLECKI 1905) und die vielfach vorkommende Verschmelzung des gesamten Chromatins mit ihm.

Bei Gregarinen tritt die Beziehung des Chromatins zum Karyosom aus den angeführten Tatsachen für *Echinomera hispida* zur Genüge hervor, einmal die Entstehung des Karyosoms aus dem Kernchromatin in den Sporozoiten wie bei den Coccidien, dann die Verschmelzung des gesamten Chromatins mit ihm und der nachherige Neuaufbau des Kernnetzes aus ihm, schließlich und vor allem die Bildung des Karyosoms aus dem unpaaren Chromosom.

Alle diese Beobachtungen sollten es einigermaßen wahrscheinlich machen, daß die Anstoßung eines Teiles der Substanz des Karyosoms mehr als Reduktion des Chromatins der Geschlechtskerne zu betrachten ist denn als Kernreinigung.

Tritt SIEDLECKI (1905) dennoch für den Gedanken einer Kernreinigung ein, weil das ausgestoßene Karyosom bei einigen Formen (*Caryotropha mesnili*) wegen seiner beherrschenden Tätigkeit in der Wachstumsperiode sich als vegetative Substanz erwiesen habe, so muß man darauf aufmerksam machen, daß doch schließlich auch das Karyosom, zum mindesten, um vererbt werden zu können, eine gewisse Grundlage an generativer Substanz besitzen muß. Ein gutes Beispiel dafür ist wieder *Echinomera*, bei der dem Kerne der vegetativen Periode allein von dem Karyosom der Charakter aufgeprägt wird, dieses Karyosom aber nachher denuoch als Chromosom, also in der Form typischer generativer Substanz, auftritt. Ähnliches ist bei *Stylorhynchus longicollis* der Fall, wo unbedingt das Karyosom während der Mitosen der generativen Kerne in einem oder allen der vier Chromosome vorhanden sein muß, da es in jedem Tochterkern zu konstatieren ist.

Von prinzipieller Bedeutung aber für die Frage auch bei den Gregarinen sind die Worte SCHAUDINN's (1900) in seiner berühmten Arbeit über *Coccidium schubergi*: „Ich glaube, daß wir (über die Frage der Kernreinigung oder Kernreduktion) gar nichts aussagen können, wir wissen nur, daß bei den bisher untersuchten Coccidien vor oder nach der Befruchtung ein Teil des Kernes zugrunde geht, d. h. die Kernsubstanz wird verringert, und nur in diesem weitesten Sinne kann man von Reduktion sprechen. Von der physiologischen

Bedeutung dieser Vorgänge können wir nichts aussagen. Sie aber direkt mit der komplizierten Reduktion bei der Richtungskörperbildung der Metazooeneier in Beziehung zu bringen, scheint mir, solange wir keine Übergänge haben, nicht gnt möglich.

Vielleicht ist aber doch bei den Gregarinen in dieser Beziehung mehr zu erwarten als bei den Coccidien, wenn die Vorgänge umfassender studiert werden, denn bei ihnen haben wir wenigstens die Mitose, die für den Begriff einer Reduktion im Sinne der Metazoenreduktion wesentlich ist.

Zum Schluß möchte ich bemerken, daß wohl die Chromatin-ausstoßung bei der ersten Mitose der Gregarinen am allerwenigsten als Reduktion angesehen werden kann, denn dagegen spricht zu sehr die durch das ganze Tierreich geheude Regel, daß mit den Reifungsvorgängen die Bildung der Gameten abgeschlossen wird, und nicht erst noch viele Mitosen mit dem bereits reduzierten Chromatin dazwischen liegen, wie das hier der Fall sein würde.

Der Kerndualismus bei den Gregarinen.

Es ist bereits an früherer Stelle kurz ein Vergleich der Verhältnisse bei der ersten Kernteilung der Gregarinen mit den Konjugationsvorgängen der Infusorien durchgeführt worden: nachdem jetzt die Deutung als Reduktion zurückgewiesen ist, wird hier der Ort sein, der Frage näher zu treten im Anschluß an jene großen allgemeinen Gesichtspunkte, die SCHAUDINN über die Befruchtungsvorgänge der Protozoen aufgestellt hat (kurz zusammengefaßt in einem Vortrag auf der 15. Tagung der deutschen zool. Gesellschaft). SCHAUDINN suchte die Tatsache des Kerndualismus, wie er in klassischer Weise bei den Infusorien auftritt, unter Zuhilfenahme des Begriffs des Chromidiums für das ganze Protozoenreich zu verallgemeinern: überall läßt sich eine vegetative und generative Substanz während der geschlechtlichen Periode unterscheiden, jede fähig aufzutreten entweder als typischer Kern oder als Chromidium. Es scheint gelungen zu sein, eine große Anzahl auf den ersten Blick sehr verschiedenartiger und mannigfacher Verhältnisse in diesen einfachen Worten zusammen zu fassen und unter einen Gesichtspunkt zu bringen: ich gehe auf die wenigen und dennoch recht bemerkenswerten ein, die uns bei den Gregarinen entgegentreten.

Das Gemeinsame bei der ersten Kernteilung aller bisher daraufhin untersuchten Arten besteht darin, daß zur Bildung der Gametenkerne

nur ein verhältnismäßig sehr kleiner Teil des gesamten Chromatins verwandt wird; der Rest tritt ins Plasma. Formell haben wir also jedenfalls einen Dualismus des Kernchromatins vor uns, und soviel ist sicher, daß das generative Chromatin immer in Form eines typischen Kernes auftritt: minder einheitlich und komplizierter ist die Frage nach dem vegetativen Teil des Chromatins. Auf den Fall des *Stylorhynchus longicollis* wies bereits SCHAUDINN selbst hin: LÉGER gibt nichts darüber an, wie sich das ins Plasma ausgetretene Chromatin verhält, wohl aber macht er darauf aufmerksam, daß zwischen den nachher auftretenden generativen Kernen einzelne der Lage, der Größe, dem Teilungsmodus und dem Karyosominhalt nach unterschiedene Kerne zu finden sind, die bei Beginn der Gametenbildung degenerieren. Das ist nach SCHAUDINN die vegetative Komponente des Kerndualismus bei *Stylorhynchus*, die demnach ebenfalls in Kernform auftritt. Nicht berücksichtigt ist dabei das aus dem ersten Kern ausgetretenen Chromatin, das bei den anderen Formen — ich beschränke mich auf die typischen Fälle bei *Gregarina ovata*, *Pteroccephalus* und *Echinomera* — eine so in die Augen fallende Rolle spielt. Will man SCHAUDINN's allgemeine Betrachtungsweise auch hier anwenden, so kann man bei ihnen nur dies Chromatin als die vegetative Komponente bezeichnen: es tritt in Form einer chromatischen Wolke aus, untermischt entweder mit einzelnen kleineren Karyosomrestkörpern oder einem großen. Kann man diese gesamte ausgestoßene Chromatinmasse unter dem Namen eines vegetativen Chromidiums zusammenfassen, so daß also der Kerndualismus bei diesen Formen darin bestände, daß die generative Substanz in Form von Kernen, die vegetative in Form eines Chromidiums auftritt?

Zu berücksichtigen ist, wie es bei allen drei erwähnten Arten beschrieben ist, daß der eine Teil des ausgetretenen Chromatins ganz entgegen dem Verhalten typischen Chromatins verflüssigt wird, das andere dagegen wie ein echtes Chromidium immer feiner staubförmig wird, und sich an die Peripherie der Cyste lagert. Soll man nicht doch nur dies letztere als das vegetative Chromidium ansehen? Dagegen spricht das Verhalten des Makronukleus der Infusorien, der bei ihnen als die vegetative Komponente des Kerndualismus angesehen wird, denn er verflüssigt sich in derselben Weise wie die Karyosomrestkörper der Gregarinen. Auch müßte man sonst diesen Teil als degenerierend und wertlos während der Fortpflanzungsperiode ansehen, vielleicht als eine Kernreinigung im Sinne SIEDLECKI's nach der langen vegetativen Periode: es ist aber zu beachten, daß sich dieser Prozeß der Karyosomausstoßung — wie bei *Echinomera*

nachgewiesen — in der generativen Periode bei jeder Kernteilung mit großer Exaktheit wiederholt. Man ist versucht zu glauben, daß eine so häufige „Kernreinigung“ nicht nötig wäre, und daß dem ausgestoßenen und verflüssigten Körper wohl doch irgend eine Aufgabe zukommt, vor allem, wenn man bedenkt, daß die Kernteilungen fast ohne Pause vor sich gehen, dabei sicher eine große Energiemenge verbrauchen, deren Heranschaffung diese sich teilenden Kerne, indem sie sich am Stoffwechsel nicht betätigen können, vielleicht nicht zu bewältigen vermögen. Es scheint also etwas dafür zu sprechen, daß die Karyosomreste in gewissem Sinne als zum vegetativen Chromidium gehörig betrachtet werden dürfen, dagegen aber die Tatsache, daß bei *Stylorhynchus* ebenfalls solche Ausstöße vorkommen und dennoch die vegetative Komponente gesondert in Form typischer Kerne auftritt. Jedenfalls ist zur Genüge erwiesen, daß es doch nicht ganz klar ist, wenn man der Erklärung dieser Vorgänge die Anschauungen SCHAUDINN's zugrunde legt, was eigentlich bei den Gregarinen als die vegetative Komponente des Kerndualismus anzusehen ist — in ihr nur alles nicht generative Chromatin zusammenzufassen, ist wie die obigen Ausführungen zeigen, doch wohl nicht ganz angängig.

Alles in allem scheint es aber, daß bei den Gregarinen zwei Möglichkeiten verwirklicht sind: es kann die vegetative und generative Komponente des Kerndualismus in Form typischer Kerne auftreten, oder nur die letztere und dann die erstere in Form eines Chromidiums.

Bildung und Zerstreuung der Sporocysten.

Sofort nach der Befruchtung bildet sich um das Ei die erste Hülle, die sogenannte Exospore, und nach einiger Zeit teilt sich der vorhandene Kern in zwei, wahrscheinlich durch Mitose, was aber infolge der Hülle nicht mit gleicher Deutlichkeit wie bei den früheren erkannt werden kann. Die Tochterkerne lagern sich jeder an einen Pol der Spore (Fig. 57), und teilen sich hier nochmals, worauf eine längere Pause einzutreten scheint, denn diese Stadien sind die häufigsten, die man findet (Fig. 58.) Es bildet sich währenddes die Endospore, und in der Regel beginnt jetzt auch oder hat bereits begonnen die Verfärbung des in seiner Gesamtheit birnförmigen Sporenhaltendes der Cyste, der immer noch den Raum des früheren weiblichen Tieres der Cyste einnimmt. Während der männliche Restkörper bis zum Schluß milchweiß bleibt, färbt sich der Sporenkörper immer

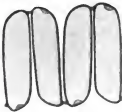
stärker bräunlich, bis er am Ende ganz tief blauschwarz geworden ist. An den einzelnen Sporen selbst kann man diese Färbung durchaus nicht wahrnehmen, wohl aber sieht man jede mit einer silberglänzenden Hülle von Luft umgeben, die besonders stark an denen hervortritt, die direkt unter der Cystenhaut liegen: die Schwarzfärbung wird deswegen wohl als eine Interferenzerscheinung anzusehen sein. Festgestellt ist sie außerdem bisher bei den Dactylophoriden-Gattungen *Rhopalonia*, *Pterocephalus* und *Dactylophora*. Inzwischen hat sich auch die Reifung der Sporozoite im Innern der Sporocyste vollzogen: die beiden Kerne an jedem Pol haben sich nochmals geteilt (Fig. 58), und um jeden der nunmehr vorhandenen acht Kerne hat sich eine Plasmapierte abgeschnürt, die spindelförmige Gestalt annimmt. Der Kern liegt jedesmal am distalen Pol.

Das Gesetz der Richtung der Teilungsachsen im befruchteten Ei ist so, daß die Axe der ersten Teilung zusammenfällt mit der längsten Eiaxe selbst, die der beiden Tochterkerne an jedem Pol parallel zueinander etwa um 45° zu ihr geneigt sind, und die letzten vier Teilungen um 90° . In dieser Form scheint es für alle Dactylophoriden zu gelten, ist aber bei anderen Gregarinenformen ganz variabel je nach der schließlichen Lagerung der Sporozoite in der Sporocyste.

Ganz ist das Plasma bei der Bildung der Sporozoite nicht verbraucht worden, sondern in der Mitte der Sporocyste zwischen den beiden polwärtsgelagerten Bündeln von je vier Sporozoiten liegt ein kugelförmiger Restkörper mit einigen stark lichtbrechenden Tröpfchen im Innern. Ein Tröpfchen von ungefähr demselben Lichtbrechungsvermögen, aber bedeutenderer Größe ist dem einen Pol der Endospore angelagert (Fig. 59).

Die Form der ganzen Sporocyste ist im allgemeinen noch immer walzenförmig wie die des Eies, aber an den Enden auf entgegengesetzten Seiten schräg abgerundet; nicht auf diesen abgerundeten Flächen, sondern jedesmal am oberen Ende der geraden Seitenlinie sitzt je ein Tröpfchen von sehr stark klebriger Beschaffenheit, das den Zweck hat, die einzelnen Sporen miteinander zu verkleben: man erinnert sich, wie bei der Bildung der Eier erwähnt wurde, daß diese sich alternierend ineinander schieben; das erreicht seine Vollendung bei den Sporen (Fig. 28), die durchweg in einzelnen Paketen so angeordnet sind, daß immer abwechselnd einmal oben und dann wieder unten zwei der klebrigen Tröpfchen einander berühren, wie im nachstehenden Schema (Textfig. 3) angedeutet. So wird es ermöglicht, daß sie sich nachher beim Auseinanderziehen in Ketten anordnen.

Die Zerstreuung der Sporen aus der Cyste selbst geht durch einen sehr sinnreichen Mechanismus vor sich, die bereits erwähnte „pseudokyste latéral“, wie sie LÉGER (1892) in einer Zusammenstellung der verschiedenen Arten der Sporenzerstreuung der Gregarinen nennt. Im ganzen wären nach ihm vier Typen zu unterscheiden, die einfachste



Textfig. 3.

Schema der Sporenverkettung
bei *Echinomera hispida*.

bei den Menosporiden, Acanthosporiden und Actinocephaliden, bei denen der Restkörper der Syzygiten zwischen die Sporen verteilt ist und durch Quellung die Hüllen zerreißt; dann die Sporodukte bei den Gregariniden, deren Restkörper sich in Form einer Hohlkugel an die Cystenhülle lagert und dort die sporoduktenbildende Haut um sich ausscheidet. Schließlich in den beiden anderen Fällen die Bildung der Pseudocyste, die bei den Stylorhynchiden in der Weise entsteht, daß der Restkörper des Männchens und Weibchens miteinander zu einer das Centrum der Cyste einnehmenden Kugel verschmelzen und sich mit einer Haut umgeben. Bei den Dactylophoriden dagegen ist an ihrer Bildung nur der kalottenförmige Restkörper des Männchens beteiligt, und die Pseudocyste liegt demnach nicht in der Mitte, sondern seitlich. Ihre eigentümliche Wirksamkeit ist von LÉGER beobachtet worden bei *Rhopalonia geophili* (1896) und *Pteroccephalus nobilis* (1902), die sich beide ganz gleich verhalten sollen.

Bei *Echinomera* spielte sich der Vorgang in der Weise ab, daß zunächst die beiden äußeren Cystenhüllen platzten, bewirkt durch die Pseudocyste, die durch Aufnahme der Flüssigkeit zwischen den Sporen so stark aufgequollen war, daß sie die Kalottenform aufgehen mußte, mehr kugelförmig wurde und dabei die Cystenhüllen sprengte. Der Sporenkörper bleibt aber noch an ihr haften, und zwar mit seiner schmaleren Basis in eine kleine tellerförmige Vertiefung derselben eingeklemmt (Fig. 28). Die Pseudocystenhaut hat an dieser Stelle einen bemerkenswerten Bau, wie an Schnitten festzustellen ist: die Ränder des Tellers sind nämlich stark verdickt, am meisten dort, wo sie umgebogen sind. Ich vermute, daß diese Verdickungen irgendwie gegen Feuchtigkeit empfindlich sind, es wird sich wohl ihre äußere durch Platzen der Hüllen mit der freien Luft in Verbindung tretende Schicht durch Anstrocknen stark zusammenziehen können und so die immense Kraftentfaltung hervorrufen, die bei der nun erfolgenden Herausstülpung des Tellers den ganzen Sporenkörper wohl 8 cm weit fortschleudern kann. Die

Sporen werden dabei also nicht, wie es bei *Rhopalonia* und *Pterocephalus* geschehen soll, in langen Ketten zerstreut, sondern das geht erst aus dem irgendwo angeklebten Sporenkörper vor sich, auch in viel geringerem Maße, indem nur einzelne kleine Kettchen aus der Oberfläche des sonst ganz kompakten Sporenkörpers hervorragen. Man wird LÉGER zustimmen müssen, wenn er diese Kettenbildung auf die Ausdehnung der zwischen den Sporen ausgeschiedenen Luft-hülle zurückführt, die, während die Sporen noch in der Cyste lagen, vielleicht stark komprimiert war. Auffällig bleibt aber doch, daß bei *Echinomera* ein selbsttätiges Fortschreiten der Kettenbildung und eine immer weiter gehende Auflockerung des Sporenkörpers noch Tage lang anhält.

Für eine noch weitere Verbreitung sorgt wohl das Wirtstier selbst, seine beständig tastenden Antennen vermögen bei der leisesten Berührung des Sporenkörpers lange Ketten daraus hervorzuziehen, und da der *Lithobius* die Gewohnheit hat, sie sehr häufig mit den Mundwerkzeugen zu reinigen, gelangen sie ohne Schwierigkeiten auch in den Darm.

Dort werden die Sporozoite frei, nicht indem sich die Hüllen unter Einwirkung des Darmsaftes auflösen, wie man früher allgemein annahm, sondern zunächst springt die Exospore an einem Pol zu zwei Schalen auseinander, die am anderen Pol noch zusammenhaften (Fig. 60). Das kann man ohne Schwierigkeit beobachten, wenn man die Sporocysten in die Darmflüssigkeit des getöteten *Lithobius* bringt, aber weiter spielt sich darin der Vorgang nie ab. Das stellte auch LÉGER bei den von ihm untersuchten Formen fest: das Ausschlüpfen der Sporozoite erfolgt nur im Darm selbst, den man bei *Pterocephalus* schon nach etwa 5 Minuten öffnen muß, wenn man es beobachten will. Bei *Echinomera* gelang mir das nicht, man kann die lebenden Sporozoite bei ihrer Kleinheit — 4,3 bis 4,5 μ gegen 10 bis 11 μ bei *Pterocephalus* — im Darmsaft nie entdecken; der Vorgang wird aber wohl in derselben Weise verlaufen wie bei letzterer Art. Ist die Endospore frei geworden, so tritt erst ein helles Tröpfchen aus dem einen Pol hervor — wohl dasselbe, das an dem einen Pol der Sporocysten von *Echinomera* immer zu sehen ist — und schafft so einen Ausgang, den die Sporozoite einer nach dem anderen benutzen. Sie irren nicht lange im Darm umher — bei *Stylorhynchus* kann das z. B. bis zu fünfzehn Tagen dauern. Nach etwa einer Stunde haben sie vielmehr alle ihren definitiven Platz am Darmepithel erreicht, um dann den Entwicklungszyklus von neuem zu beginnen, der im Anfang der Arbeit beschrieben ist.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, den Dank, den ich Herrn Prof. Dr. E. KORSCHULT in so außerordentlichem Maße schuldig bin, hier auszusprechen. Ebenso sage ich den Herren Privatdozent Dr. MEISENHEIMER und Dr. TÖNNIGES für Ihr förderndes Interesse meinen Dank.

Marburg, Dezember 1906.

Literaturverzeichnis.

- BERNDT, A.: Beitrag zur Kenntnis der im Darm der Larve von *Tenebris molitor* lebenden Gregarinen. Arch. f. Protistenk. Bd. I Heft 3 1902.
- BRASIL, L.: Contribution à la connaissance de l'appareil digestif des Annélides polychètes. Arch. de Zool. exp. et gén. Série IV Vol. II 1904.
- : Recherches sur la reproduction des Grégaires monocystidées. Arch. de Zool. exp. et gén. Série IV Vol. III 1905.
- BÜTSCHLI: Protozoa in BRONN's Klassen und Ordn. des Tierreichs 1880—1882.
- CAULLERY et MÉNIL: Sur une Grégaire coelomique présentant dans son cycle évolutif une phase de multiplication asporulée. Comptes Rend. de la Soc. de Biol. Vol. 50 1898.
- —: Sur quelques parasites internes des Annélides. Travaux de la Stat. zool. Wimerenx (Miscell. dédiées au Prof. A. GIARD). Paris 1899.
- —: Sur un mode particulier de division nucléaire chez les Grégaires. Arch. d'Anat. microsc. Vol. 3 1900.
- CECCONI, J.: De la Sporulation de *Monocystis agilis*. Arch. d'Anat. microsc. Vol. 5 1902/3.
- CUÉNOT, L.: Evolution des Grég. coelomiques du Grillon domestique. Compt. Rend. de l'Acad. des Sci. de Paris Vol. 125 1897.
- : L'épuration nucléaire au début de l'ontogénèse. Compt. Rend. de l'Acad. des Sci. de Paris Vol. 125 1897.
- : Recherches sur l'évolution et la conjugaison des Grégaires. Arch. de Biol. Vol. XVII 1901.
- CRAWLEY, H.: The progressive Movement of Gregarines. Proceed. of the Acad. of Natural Sci. Philadelphia 1902.
- DOGIEL: Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. I. *Cystobia chiridotae*. Arch. für Protistenk. Bd. VII Heft 1 1906.
- DREWECKI: Über veget. Vorgänge im Kern und Plasma der Greg. des Regenwurmmodens. Arch. für Protistenk. Bd. III 1904.
- LAVERAN et MÉNIL: Sur quelques particularités de l'évol. d'une Grégaire. Compt. Rend. de la Soc. de Biol. Paris Vol. LII 1900.
- LÉGER, L.: Thèses présentées à la Fac. des Sci. de Paris 1892.
- : Sur quelques types nouveaux de Dactylophorides de la Région méditerranéenne. Travaux de la Stat. zool. de Wimerenx (Miscell. biol. dédiées au Prof. A. GIARD) 1899.
- : La reproduction sexuée chez les Stylorhynchus. Arch. für Protistenk. Bd. III 1904.

- LEGER et DUBOSQ: Grégarines et l'Epithélium intestinal chez les Trachéates. Arch. de Parasitologie Vol. VI 1902.
- —: Les éléments sexuels et la fécondation chez les Pterocéphalus. Compt. Rend. de l'Acad. des Sci. de Paris Vol. 134 1902.
- —: Recherches sur les Myriapodes de Corse et leurs Parasites. Arch. de Zool. exp. et gén. Série IV Vol. I 1903.
- —: La reproduction sexuée chez Pterocéphalus. Arch. de Zool. exp. et gén. Série IV Vol. I Notes et Revue 1903.
- —: Nouvelles Recherches sur les Grégarines et l'Epithélium intestinal des Trachéates. Arch. für Protistenk. Vol. IV 1904.
- —: Sur l'évolution des Grégarines gymnoporées des Crustacés. Compt. Rend. de l'Acad. des Sciences de Paris Vol. CXLII No. 22 1906.
- —: L'évolution d'une Aggregata de la Seiche chez le Portunus depurator. Compt. Rend. de la Société de Biologie Vol. LX No. 22 1906.
- LÜHE, M.: Bau und Entwicklung der Gregarinen. Arch. für Protistenk. Vol. IV 1904.
- MARSHALL, W. S.: Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. Arch. für Naturgesch. 59 I 1893.
- MOROFF, TH.: Sur l'évolution des prétendues Coccidies des Céphalopodes. Compt. Rend. de l'Acad. des Sciences de Paris Vol. CXLII No. 11 1906.
- : Bemerkungen über den Kern der Aggregata Frenzel. Zool. Anzeiger Vol. 81 1907.
- : Untersuchungen über Cocc. Arch. für Protistenk. Vol. VIII Heft 1 1906.
- MRÁZEK, M.: Studia o Sporozoich J. Děleni jaderné a sporulace Gregarin. Vorläuf. Mitteil. in Sitzungsber. k. böhm. Ges. Wiss. 1899 No. 35.
- NUSSBAUM, J.: Über die geschlechtl. Fortpfl. einer im Darmkanale von Henlea leptodera Vejd. schmarotzende Gregarine Schaudinnella henlea mihi. Zeitschr. für wissenschaft. Zoologie Vol. LXXV Heft 2 1903.
- PAHLER, F.: Morphologie, Fortpfl. und Entwickl. von Gregarina ovata. Arch. für Protistenk. Bd. IV 1904.
- PROWAZEK, S.: Zur Entwicklung der Gregarinen. Arch. für Protistenk. Bd. I 1902.
- PRANDTL, H.: Konjugation von Didinium nasutum. Arch. für Protistenk. Bd. VII Heft 1 1906.
- SCHAUDINN, F.: Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien. Zool. Jahrb. Bd. XIII Heft 2 1900.
- : Neuere Forschungen über die Befruchtung bei Protozoen. Verhandl. der deutsch. zool. Gesellschaft 1905.
- SCHNIDER, A.: Sur quelques points de l'histoire de genre Gregarina. Arch. de Zool. exp. et gén. 1873.
- : Contribution à l'histoire des Grégarines des Invertébr. à Paris et Roscoff. Arch. de Zool. exp. et gén. 1875.
- SCHNITZLER, H.: Über die Fortpflanzung von Gregarina ovata. Arch. für Protistenk. Bd. VII 1905.
- SIEBLECKI, M.: Über die geschlechtl. Vermehrung der Monocystis ascidia. Bull. intern. Acad. Sci. de Cracovie 1899.
- : Über die Bedeutung des Karyosoms. Bull. intern. Acad. Sci. de Cracovie 1906.
- WOODCOCK, H. M.: On Cystohia irregularis. Arch. de Zool. exp. et gén. Série IV Vol. II 1904.
- WOLTERS, M.: Die Konjugation und Sporenbildung bei den Gregarinen. Arch. für mikrosk. Anatomie Bd. XXXVII 1891.

Tafelerklärung.

Tafel IX.

Fig. 1—9. Ontogenie von *Echinomera hiapida*. Konservierung: FLEMMING'sche Lösung. Färbung: Eisenhämatoxylin mit Bordeauxrot. Vergr. ca. 2350.

Fig. 1. Festsetzen des Sporozoiten an das Darmepithel. Alter: 1 und 15 Stunden.

Fig. 2. Entstehung des Karyosoms.

Fig. 3. } " 15 "

Fig. 4. } " 60 "

Fig. 5. } Entstehung des Epimerits und gleich- " 109 "

Fig. 6. } zeitige Kernwanderung. " 185 "

Fig. 7. } etwa 10—11 Tage.

Fig. 8. } 2 Wochen.

Fig. 9. Entstehung des Protomerits. " 3 "

Fig. 10. } Reife Gregarinen mit chroma- { Konservierung: HERMANN'sche

Fig. 11. } toiden Plasmaeinschlüssen. { Lösung. Vergr. 650.

Fig. 12. } Kerne der reifen Gregarinen. { Konservierung: FLEMMING'sche

Fig. 13. } Lösung. Vergr. 1000.

Fig. 14. } Epicytstreifen der Gregarine. FLEMMING'sche Lösung. Vergr. 2350.

Fig. 15. } Chromatoide Plasmaeinschlüsse. { Konservierung: FLEMMING'sche

Fig. 16. } Lösung. Vergr. 650.

Fig. 17. } Kern einer Gregarine kurz vor der Encystierung. Konservierung:

Fig. 18. } HERMANN'sche Lösung. Vergr. ca. 900.

Fig. 19. Kern einer Gregarine während der Encystierung. Konservierung:

Fig. 20. Kern einer Gregarine während der Encystierung. Konservierung:

Fig. 21. Karyosomveränderungen vor der ersten Mitose. Konservierung:

Fig. 22. Karyosomveränderungen vor der ersten Mitose. Konservierung:

Fig. 23. Karyosomveränderungen vor der ersten Mitose. Konservierung:

Fig. 24. Karyosomveränderungen vor der ersten Mitose. Konservierung:

Fig. 25. Karyosomveränderungen vor der ersten Mitose. Konservierung:

Fig. 26. Karyosomveränderungen vor der ersten Mitose. Konservierung:

Fig. 27. Karyosomveränderungen vor der ersten Mitose. Konservierung:

Fig. 28. Karyosomveränderungen vor der ersten Mitose. Konservierung:

Tafel X.

Fig. 22—28. Gesamtübersicht über die Entwicklung der Gameten in der Cyste. Konservierung mit FLEMMING'scher, ZENKER'scher oder DUBOSCQ'scher Lösung. Vergr. 200.

Fig. 29. Kern mit Mikronukleus und Karyosomrestkörper. ZENKER'sche Lösung. Vergr. 1000.

Fig. 30. Erste Mitose (kombiniert aus 2 Schnitten). ZENKER'sche Lösung. Vergr. 1000.

Fig. 31. Attraktionskonus mit Centrosom. { Konservierung: Snbl.-Alkohol-

Fig. 32. Teilung derselben. } Eisessig. Vergr. ca. 2850.

Fig. 33. Junger Tochterkern. Konservierung: Snbl.-Alk.-Eisessig. Vergr. 2350.

Fig. 34. Ausströmungen von Chromatin aus dem Karyosom. Konservierung: Snbl.-Alkohol-Eisessig. Vergr. 2350.

Fig. 35. Mitose. Konservierung: Snbl.-Alkohol-Eisessig. Vergr. 2350.

Fig. 36—49. Mitosen der Tochterkerne — Auflösung des Karyosoms und Neuentstehung desselben aus dem unpaaren Chromosom. Konservierung: DUBOSCQ'sche Lösung. Vergr. 2350.

Tafel XI.

Fig. 50. Vorstadien der Eibildung. Konservierung: FLEMMING'sche Lösung. Vergr. 2350.

Fig. 51. Vorstadien der Eibildung. Konservierung: FLEMMING'sche Lösung. Vergr. 2350.

Fig. 52, 53. Fertiges Ei. Konservierung: FLEMMING'sche Lösung. Vergr. 2350.

Fig. 54. Reduktion des Karyosoms. Konservierung: HERMANN'sche Lösung. Vergr. 2350.

Fig. 55. Ei mit Spermatozoid. Konservierung: HERMANN'sche Lösung. Vergrößerung 2350.

Fig. 56. Ei nach der Befruchtung. Konservierung: DUBOSCQ's Lösung. Vergrößerung 2350.

Fig. 57. Sporocyste mit 2 Kernen. Konservierung: ZENKER'sche Lösung. Vergr. 2350.

Fig. 58. Sporocyste mit 4 Kernen. Konservierung: FLEMMING'sche Lösung. Vergr. 2350.

Fig. 59. Sporocyste mit 8 Sporozoiten und dem Restkörper. Kombiniert nach dem Leben und nach Schnitten. Vergr. 2350.

Fig. 60. Anspringen der Exospore im Darmsaft. Vergr. 1200.

Fig. 61. Sporenketten. Nach dem Leben.

Fig. 62. Im männlichen Plasmakörper befindliche Vorkerne der Spermatozoide. Konservierung: ZENKER'sche Lösung. Vergr. 2350.

Fig. 63. Im männlichen Plasmakörper zurückgebliebene Spermatozoide. Konservierung: HERMANN'sche Lösung. Vergr. 2350.

Fig. 64a-f. Spermatozoide in der Entwicklung. Anstrich konserviert in ZENKER'scher Lösung. Vergr. 2350.

Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

Recherches sur les bactéroïdes des Blattides.

Par

L. Mercier

Chef des Travaux de Zoologie à la Faculté des Sciences de Nancy.

(Avec planches XII et XIII.)

Première Partie.

Les Cellules à *Bacillus Cuenoti* du tissu adipeux de *Periplaneta orientalis* L.

Si l'on examine des coupes de corps adipeux de Blatte (*Periplaneta orientalis* L.), après fixation au sublimé, on constate que ce tissu est formé de trois sortes de cellules: des cellules adipeuses, des cellules à urate de soude, et enfin, occupant le centre des lobes, des cellules bourrées de petits bâtonnets colorables électivement par certains colorants.

BLOCHMANN signala le premier (1887) la présence de ces bâtonnets dans les tissus et les œufs de différents Insectes et en particulier de la Blatte; aussi ces éléments sont-ils souvent désignés sous le nom de corps de Blochmann. Cet auteur insiste sur la grande ressemblance qui existe entre ces éléments figurés et des Bactéries; dans un second mémoire (1892) il semble les considérer comme des Bactéries symbiotiques. FORBES (1892) se range aussi à cette manière de voir, mais il n'a pu, ainsi que BLOCHMANN, réussir à les cultiver.

Pour d'autres savants: CUÉNOT (1892), HENNEGUY (1904), PRENANT (1904), les corps de Blochmann sont des formations cyto-

plasmiques qu'ils rapprochent des cristalloïdes connus dans certaines cellules végétales ou animales. En raison de la forme spéciale de ces cristalloïdes rappelant à s'y méprendre celle de Bactéries, ces auteurs leur donnent le nom de bactéroïdes, et aux cellules qui les renferment celui de cellules à bactéroïdes.

Dans une courte note (1906, b), j'ai annoncé que j'avais obtenu des cultures pures des corps de Blochmann, et que par conséquent ces éléments sont bien des Bactéries.

J'ai donné à ce Bacille de la Blatte le nom de *Bacillus cuenoti* n. sp., le dédiant à mon Maître, Monsieur le Professeur CUENOT.

J'étudierai dans ce mémoire, les caractères des Bactéries de la Blatte commune :

- 1° : chez des Blattes adultes (chez des animaux normaux et chez des animaux se trouvant dans de mauvaises conditions de vie);
- 2° : dans l'œuf et dans l'embryon;
- 3° : dans des cultures pures obtenues en partant de la Blatte.

Bacillus cuenoti chez la Blatte.

BLOCHMANN (1892) décrit ses bactéroïdes comme des bâtonnets présentant un espace clair central et dont la longueur varie entre 6 et 8 μ ; beaucoup sont courbés en s. Ils se colorent bien par les couleurs d'aniline et gardent le Gram. BLOCHMANN a observé souvent des gronpes de deux bâtonnets disposés bout à bout, ce qui lui fait admettre que ces éléments se multiplient par division. Il en a trouvé fréquemment qui présentent un renflement à une extrémité, leur aspect est alors comparable à celui de certains Bacilles à spores.

Je crois devoir faire quelques réserves au sujet des caractères que BLOCHMANN donne comme caractères généraux de ses bactéroïdes. A cet effet, j'ai étudié ces corps chez des Blattes maintenues dans des conditions biologiques différentes :

- 1° : chez des Blattes se trouvant dans des conditions normales;
- 2° : chez des Blattes soumises à une longue inanition;
- 3° : chez des Blattes parasitées.

J'ai constaté qu'il existe des différences nettement marquées dans l'aspect des Bacilles de la Blatte suivant qu'on les étudie chez des animaux appartenant à l'un ou l'autre de ces trois lots.

Blattes dans des conditions normales.

J'ai étudié les Bacilles sur des coupes de corps adipeux et sur des frottis.

Sur les coupes, les cellules à Bacilles se montrent bourrées de ces éléments qui sont orientés dans toutes les directions, enchevêtrés les uns dans les autres. Le cytoplasme des cellules est complètement masqué, cependant le noyau se voit très nettement et présente des particularités de forme et de structure sur lesquelles j'aurai à revenir.

Les Bacilles offrent certaines réactions colorantes propres au noyau. C'est ainsi qu'après coloration à l'hématoxyline ferrique, ils restent électivement colorés. En raison du nombre considérable de ces éléments dans les cellules, la méthode des coupes n'est pas favorable à leur étude. Celle-ci doit être faite sur des frottis.

Si l'on colore par le violet de gentiane ou le bleu de méthylène phéniqué des frottis de corps adipeux fixés par l'un des procédés en usage en bactériologie: chaux, sublimé, alcool-éther, les Bacilles se présentent sous l'aspect de bâtonnets à structure granuleuse, à extrémités arrondies, dont la longueur varie entre $4\ \mu$ et $8\ \mu$ (fig. 6). Beaucoup de ces bâtonnets sont très fortement arqués et quelques-uns même courbés en *s*; certains sont disposés en assez longs filaments. J'ai rencontré fréquemment des Bacilles en voie de division (b, fig. 6).

Il importe, pour observer les Bacilles avec ces caractères, de les étudier chez des Blattes bien nourries. En effet chez des animaux se trouvant dans des conditions de vie défavorables, ces micro-organismes se présentent avec des caractères très différents de ceux que je viens d'exposer.

Blattes maintenues en inanition.

C'est ainsi que chez des Blattes maintenues plusieurs jours dans un état d'inanition complet, les Bacilles se présentent sous forme de bâtonnets dont la longueur varie entre $3\ \mu$ et $5\ \mu$ (fig. 7), les formes les plus courtes étant les plus abondantes. Les extrémités des bâtonnets se colorent d'une façon intense, tandis que la région centrale ne prend que faiblement les colorants et constitue une zone claire. Beaucoup de Bacilles présentent, à une extrémité, un renflement ovoïde, plus large que l'élément (b_a , fig. 7); ils ont alors la forme de baguettes de tambour, aspect que prennent certains Bacilles à spores. On rencontre aussi fréquemment chez ces Blattes des Bacilles en voie de division (b, b_1 , fig. 7).

Blattes parasitées.

J'ai signalé (1906, a) l'existence d'un organisme à forme levure parasite de la Blatte.

Les Blattes infectées par cette levure constituent un matériel de choix pour l'étude des Bacilles en place dans les cellules.

En effet comme le montre la figure 5, les Bacilles disparaissent, chez les Blattes parasitées, au fur et à mesure que progresse l'envahissement du tissu adipeux par la levure. Ils ont complètement disparu des deux cellules C_1 et C_2 ; dans la cellule C_3 ils sont en voie de disparition, et beaucoup moins nombreux que dans une cellule normale. Leur petit nombre permet de se rendre compte de certaines particularités. Ces éléments ont la forme de très courts bâtonnets à espace clair central; leur aspect est celui des Bacilles provenant de Blattes maintenues en inanition. Dans cette même cellule C_3 , on voit des Bacilles (b_1 , b_2) en voie de division, fait que l'on ne peut constater que sur des frottis, chez des Blattes non parasitées.

La figure 14 représente une autre cellule à Bacilles de la même Blatte. Les microorganismes y sont plus nombreux que dans la cellule précédente et j'ai seulement représenté ceux qui se trouvent sur un même plan. On voit sur cette figure, dans une même cellule, des formes courtes à côté d'éléments de grande taille. Certains de ces grands éléments, disposés bout à bout forment d'assez longs filaments (f_1 , f_2), analogues à ceux dont j'ai constaté la présence sur des frottis de corps adipeux de Blattes se trouvant dans des conditions de vie normales.

L'étude des cellules à Bacilles chez des Blattes parasitées par l'organisme à forme levure permet donc de se rendre compte de certaines particularités morphologiques de ces éléments en place dans les cellules; en même temps, elle permet aussi de saisir le passage des formes longues que l'on rencontre chez les Blattes bien nourries, aux formes courtes que l'on observe chez les animaux maintenus en inanition.

Les Bacilles dans l'œuf et dans l'embryon.

Les Bacilles existent non seulement dans le tissu adipeux des Blattes adultes, mais on les trouve aussi dans l'œuf et dans l'embryon où ils ont été signalés par BLOCHMANN (1887—1892), HENNEGUY (1904) et par WHEELER (1892) chez *Blatta germanica*.

Les bactéroïdes décrits par BLOCHMANN (1892) formeraient tout d'abord une couche continue à la surface de l'œuf; ensuite ils s'épanchraient dans le cytoplasme. Cet auteur n'a jamais constaté, chez la Blatte, la présence de ces éléments dans les cellules folliculaires, tandis qu'au contraire chez *Camponotus* certaines de ces cellules en seraient bourrées.

Chez de jeunes embryons, BLOCHMANN a retrouvé ses bactéroïdes entre les cellules du blastoderme, dans les lacunes formées par suite de la liquéfaction du vitellus. Il fait remarquer à ce sujet que pour CHOŁODKOWSKY (1891) qui a étudié le développement de *Phyllodromia* et a observé également dans l'embryon des corpuscules semblables à des Bactéries, ces éléments ne sont pas libres, mais contenus dans les cellules vitellines.

Suivant ses bactéroïdes dans le cours de l'évolution de l'embryon, BLOCHMANN les retrouve à l'intérieur des cellules de l'ébauche du corps adipeux. Ils demeurent localisés dans les cellules centrales; et lorsque les cellules de ce tissu s'organisent en lobes, les cellules à bâtonnets occupent toujours le centre des lobes.

J'ai vérifié les faits avancés par BLOCHMANN, et j'ai constaté la présence des Bacilles dans l'œuf et dans l'embryon de *Periplaneta orientalis* sur des coupes et sur des frottis.

La figure 1 représente une portion d'une coupe sagittale d'un très jeune œuf de Blatte dans lequel on ne voit pas encore d'enclaves vitellines. Les Bacilles forment une zone continue comprise entre les cellules folliculaires (c, f) et la membrane vitelline (m). En un point, ces microorganismes sont rassemblés en un amas volumineux (a) qui refoule les cellules folliculaires et la membrane vitelline. J'ai retrouvé également cette couche continue de Bacilles sur des coupes perpendiculaires au grand axe de l'œuf.

BLOCHMANN dit n'avoir jamais constaté, chez *Periplaneta orientalis*, la présence de ses bactéroïdes dans les cellules folliculaires; or, souvent j'ai vu de ces cellules littéralement bourrées de Bacilles.¹⁾

A ce stade du développement de l'œuf, je n'ai jamais vu de Bacilles à l'intérieur même de celui-ci. Ce n'est que plus tard (fig. 2), alors que l'œuf renferme déjà de grosses granulations vitellines, que l'on trouve ces microorganismes disséminés entre les enclaves de réserve. Je n'ai pu saisir le processus du passage des Bacilles au travers de la membrane vitelline.

¹⁾ Je viens de signaler la présence de cellules à *Bacillus euenoti* dans la tunique péritonéale des gaines ovariennes de la Blatte. (C. R. Soc. Biol. T. LXII p. 758 1907.)

Les Bacilles, dans l'œuf, ont le même aspect que chez les Blattes maintenues en inanition. Ce sont de courts bâtonnets avec espace clair central et dont les extrémités arrondies se colorent fortement. Sur des frottis, on observe fréquemment des Bacilles en voie de division.

J'ai pu facilement retrouver, sur des coupes et sur des frottis, les Bacilles dans des embryons pris dans des oothèques au moment où celles-ci, cessant d'occuper une position verticale à l'entrée de la vulve, deviennent horizontales. Les Bacilles sont rassemblés, ainsi que le représente la figure 3, en un amas volumineux occupant un système de lacunes formées par suite de la liquéfaction du vitellus. La figure 4, qui correspond à la région A de la figure précédente étudiée à un grossissement supérieur, montre que dans l'embryon, les Bacilles se présentent avec les mêmes caractères morphologiques que dans l'œuf.

Pour terminer cette étude de *Bacillus cuenoti* chez la Blatte, j'ai recherché comment il se comporte vis-à-vis de certaines méthodes de coloration spéciales. J'ai constaté, après BLOCHMANN, qu'il garde le Gram. Par ce procédé, de coloration on peut réaliser, comme le montre la figure 12, des préparations où les cellules à Bacilles sont mises en évidence d'une façon très démonstrative.

Par contre, si le Bacille garde le Gram, il n'est pas acido-résistant.

Bacillus Cuenoti dans les cultures.

Mise en culture.

La présence des Bacilles dans l'embryon m'a permis de faire des prélèvements aseptiques de ces éléments et d'essayer leur mise en culture. En effet, les embryons de *Periplaneta orientalis* sont enfermés dans une capsule cylindrique, l'oothèque, vulgairement appelée œuf de Cafard. Cette capsule reste suspendue plusieurs jours, à l'entrée de la vulve, avant d'être déposée.

Les embryons sont disposés dans l'oothèque en deux séries parallèles et baignent dans un liquide absolument transparent.

Je me suis assuré par de nombreux prélèvements que ce liquide ne renferme aucun Bacille. Cette observation a son importance pour ce qui va suivre. En effet, le liquide de l'oothèque pourrait très bien être contaminé par suite de l'existence de Bacilles dans l'ovi-

ducte. C'est ainsi, par exemple qu'ARTAUD (1893) a constaté la présence du Bacille pyocyanique dans un œuf de poule; le Bacille venait certainement de l'oviducte.

J'ai, en outre, vérifié expérimentalement l'asepsie du liquide de l'oothèque de la façon suivante.

J'ai flambé l'une des extrémités d'une oothèque, et, en ce point, j'ai fait pénétrer la pointe d'une pipette stérilisée à l'intérieur de l'oothèque maintenue horizontalement. Dans ces conditions, si l'on ensemence un tube de bouillon ordinaire avec la goutte du liquide transparent, qui monte dans la pipette, ce tube reste stérile.

Au contraire, si avec la pointe de la pipette, on écrase les embryons renfermés dans l'oothèque, on obtient, en ensemençant un tube de bouillon ordinaire avec le contenu de la pipette, une culture pure d'un Bacille, *Bacillus cuenoti*.

J'ai répété cette série d'expériences une quarantaine de fois environ. J'ai obtenu des résultats constants, à condition d'opérer sur des oothèques en bon état, et prélevées alors qu'elles sont encore fixées à la vulve.

Caractères des cultures.

Culture sur gélose. Ensemencé en strie à la surface de la gélose en tube incliné, *Bacillus cuenoti* donne naissance après douze heures de séjour à l'étuve à 30° C à de petites colonies mamelonnées. Ces colonies à contour sinueux sont constituées d'une tache centrale opaque entourée d'une zone périphérique claire finement striée.

Rapidement, ces colonies deviennent confluentes et, au bout de vingt-quatre heures à l'étuve la culture forme une bande blanc-jannâtre. Le jour suivant, la culture s'étend, les bords de la bande sont irréguliers, finement striés suivant une direction perpendiculaire à celle de la strie d'ensemencement; cet aspect est dû à ce que le Bacille forme de longs filaments.

Bientôt, toute la surface de la gélose est couverte par la culture; celle-ci, en vieillissant, devient couleur mastic. La surface des vieilles cultures présente de petits plis, très fins. Jamais l'enduit ne montre de tendance à couler au fond du tube, celui-ci étant maintenu verticalement. Le développement se fait également bien à la température de la salle, mais il est un peu plus lent.

Culture sur gélatine. — La gélatine (120 g. de gélatine pour 500 g. de bouillon) est rapidement liquéfiée à la température ordinaire. Ensemencé en strie, le Bacille donne, au bout de vingt-

quatre heures, une bande translucide qui, le lendemain, s'étend sur toute la surface de la gélatine. Les caractères des cultures isolées sont les mêmes que sur gélose. Vers le troisième ou le quatrième jour après l'ensemencement, la liquéfaction commence. Le liquide qui en résulte, et dans lequel flottent des flocons grisâtres, reste clair. Jamais je n'ai observé de dégagement de bulles gazeuses.

En pique, la culture se développe tout le long de la strie d'ensemencement et s'étale à la surface libre de la gélatine. Ce développement se fait en trois ou quatre jours, puis la liquéfaction commence le long de la strie et peu à peu gagne toute la masse.

Les cultures sur gélatine examinées à la lumière sous une certaine incidence présentent de magnifiques reflets nacrés.

Culture sur pomme de terre. — Le développement se fait surtout bien sur pomme de terre glycérinée (variété dite: rognou rose).

Le long de la strie d'ensemencement, à 30°, il se développe une bande blanc-jaunâtre, d'aspect glacé, de consistance gélatineuse, qui bientôt recouvre toute la surface de la pomme de terre. A la longue, la teinte de la culture devient brunâtre. Jamais la culture n'est très abondante et ne présente de plis.

A la surface du liquide glycéринé dans lequel baigne la pomme de terre, il se forme, au bout de douze heures un voile qui, à la moindre secousse, tombe au fond du tube. Il se produit dans le liquide un abondant dégagement de bulles gazeuses.

Les vieilles cultures sur pomme de terre glycéринée dégagent une odeur assez agréable, difficile à caractériser. Cette odeur existe aussi, mais moins prononcée, dans les cultures sur gélose et sur gélatine. La pomme de terre noircit au bout d'un temps assez long.

Culture sur lait. — A 30° C du lait de vache (lait écrémé et stérilisé 20 m à 108 dans des ballons de 500 ccm, à moitié remplis, contrôlés 8 jours à l'étuve) est coagulé en trois jours. La caséine est précipitée sous forme d'un coagulum très fin. Un voile très fragile se développe à la surface du liquide qui surmonte le coagulum; ce liquide, trouble au début, jaunit, puis s'éclaircit et prend une teinte brunâtre.

Sur lait additionné de carbonate de calcium, le développement de la culture est identique; d'où nous pouvons conclure que la précipitation de la caséine a lieu par présure. A la longue, il y a peptonisation de la caséine.

Culture en bouillon ordinaire. — Au bout de douze heures à l'étuve à 30° C, le liquide se trouble. Vingt-quatre heures

après l'ensemencement, il se forme un voile épais, uni, à la surface du liquide. Ce voile ne grimpe pas après la paroi du tube, il est très fragile, se détache à la moindre secousse et tombe au fond du tube.

Au bout de huit jours, le liquide s'éclaircit et prend une coloration brunâtre; au fond du tube il s'est formé un dépôt abondant constitué surtout par des spores.

Caractères morphologiques du Bacille.

Formes. Dimensions. Arrangement. Structure.

Examiné dans une goutte de bouillon de culture ou de solution salée physiologique, *Bacillus cuenoti* se présente avec les caractères suivants:

1°: Dans le voile des cultures en bouillon ordinaire, dans les cultures en surface sur milieux solides: gélatine, gélose, pomme de terre, c'est un Bacille de 4 à 8 μ de longueur droit ou arqué, quelquefois courbé en s; il donne de longs filaments. Les extrémités des bâtonnets sont arrondies; le cytoplasme incolore renferme de nombreuses granulations.

2°: Dans le liquide sous-jacent au voile des cultures en bouillon, *Bacillus cuenoti* se présente sous forme de courts bâtonnets de 3 à 5 μ de longueur. Les extrémités arrondies de ces bâtonnets sont plus sombres que la région centrale.

Coloration par les réactifs.

Après fixation par la chaleur ou par l'alcool-éther, les Bacilles se colorent facilement par des solutions dans l'eau distillée phéniquée de violet de gentiane (fig. 8, 10), de fuchsine. Les préparations les plus fines sont obtenues par le bleu de méthylène.

Bacillus cuenoti garde le Gram, mais il n'est pas acido-résistant.

Flagella. — Le Bacille est mobile. J'ai recherché les flagella par la méthode de BENIGNETTI et GINO (1906). Cette méthode d'une très grande simplicité m'a donné d'excellents résultats. Je l'ai essayée comparativement sur un Colibacille et sur *Bacillus cuenoti*, dans les deux cas, j'ai obtenu des images de flagella d'une très grande netteté. *Bacillus cuenoti* est péritriche (fig. 9).

Spores. — Le microorganisme donne des spores; ces spores sont ovoïdes. Dans les cultures en bouillon, elles forment un dépôt abondant au fond des tubes de culture. Les Bacilles en voie de sporulation prennent, dans certaines conditions, la forme dite en

épingle on en baguette de tambour, les spores se développant aux extrémités des bâtonnets et étant plus larges que ceux-ci. La coloration spécifique des spores à la fuchsine de Ziehl, faite sur des frottis provenant de vieilles cultures sur pomme de terre, donne des préparations très démonstratives (fig. 11).

Bacillus cuenoti, par ses caractères morphologiques et les caractères des cultures, peut-être rapproché, momentanément tout au moins, de l'un ou l'autre des trois genres suivants: *Mesentericus*, *Subtilis*, *Tyrophrix*.

Il m'a paru intéressant de rapprocher les différents aspects que prend *Bacillus cuenoti* chez la Blatte, de ceux qu'il présente dans les cultures.

Dans les conditions biologiques les plus favorables: Blattes bien nourries et non parasitées, voile de cultures et cultures en surface, *Bacillus cuenoti* se présente sous forme de longs bâtonnets de 8 μ de longueur, à extrémités arrondies. Ces bâtonnets sont souvent arqués; ils peuvent rester unis et former de longs filaments.

Dans des conditions biologiques moins favorables: conditions qui sont réalisées dans l'œuf, dans l'embryon, chez des Blattes parasitées et chez des Blattes maintenues en inanition, dans le liquide sous-jacent au voile des cultures en bouillon, *Bacillus cuenoti* se présente comme un Bacille court, à espace clair central, de 3 à 5 μ de longueur, dont les extrémités arrondies se colorent fortement.

Enfin, dans certaines conditions, chez les Blattes maintenues en inanition et dans les vieilles cultures, on rencontre des Bacilles en forme de baguettes de tambour.

Bacillus cuenoti chez la Blatte et dans les cultures garde le Gram et n'est pas acido-résistant.

Une question qui se pose naturellement est la suivante: Quel est le rôle de *Bacillus cuenoti* dans l'organisme de la Blatte? Y a-t-il symbiose ou parasitisme?

Pour l'instant, je ne répondrai pas à cette question qui nécessite des recherches délicates d'un ordre tout spécial;¹⁾ mais je signalerai ce fait: les cellules à *Bacillus cuenoti* se multiplient par division directe ainsi que le montrent les figures 14 et 15.

¹⁾ Monsieur GAULT, Docteur ès-sciences, Préparateur à l'Institut chimique, veut bien nous apporter sa précieuse collaboration pour les recherches à effectuer dans cet ordre d'idées.

Lorsqu'on examine des coupes de tissu adipeux provenant d'une Blatte normalement nourrie, l'attention est attirée par ce fait. Dans certains lobes, les cellules à Bacilles sont peu nombreuses et de grande taille (fig. 14); leur noyan très volumineux affecte une forme très irrégulière (n).

Dans d'autres lobes, au contraire, ces cellules sont très nombreuses, mais de petite taille et présentent un noyan de forme très régulière.

J'ai trouvé tous les intermédiaires entre les grandes cellules à *Bacillus cuenoti* et les petites cellules. Celles-ci dérivent des premières à la suite d'un processus de multiplication qui s'effectue par division directe.

La figure 15 représente une grande cellule à Bacilles dont la division est presque terminée; l'arrangement des Bacilles le long de l'ébauche de la cloison cellulaire (s) est nettement marqué.

Cette croissance et cette multiplication des cellules à *Bacillus cuenoti* permettent de supposer que ces cellules ne sont nullement atteintes dans leur vitalité.

Index bibliographique.

- 1893 ARTAUD: Le Bacille pyocyanique dans un œuf de Poule. C. R. Soc. Biol. p. 78.
- 1906 BENIGNETTI et GINO: Die una vantaggiosa modificazione al metodo del Pitfield. Riv. d'Ig. e San. pub. T. XVII fig. 9 p. 276.
- 1887 BLOCHMANN: Über das regelmäßige Vorkommen von bakterienähnlichen Gebilden in den Geweben und Eiern verschiedener Insekten. Zeitschr. f. Biol. Bd. XXIV p. 1.
- 1892 —: Über das Vorkommen von bakterienähnlichen Gebilden in den Geweben und Eiern verschiedener Insekten. Centralbl. f. Bakteriologie u. Parasitenk. T. 11 p. 234.
- 1891 CHOŁODKOWSKY: Die Entwicklung von Phylloxera germanica. Mém. de l'Académie des Sciences de St. Pétersbourg (7) T. XXXVIII No. 5.
- 1892 CUENOT: Etudes physiologiques sur les Orthoptères. Arch. de Biol. T. XIV p. 293.
- 1892 FORBES: Bacteria Normal to digestive organs of Hemiptera. Bull. of the Illinois State Laboratory of Natural History Art. I V. IV p. 1.
- 1904 HENNEGUY: Les Insectes. Paris.
- 1906a MERCIER: Un organisme à forme levure parasite de la Blatte (*Periplaneta orientalis* L.). Levure et Nosema. C. R. Soc. Biol. T. LX p. 1081.
- 1906b —: Les corps bactéroïdes de la Blatte (*Periplaneta orientalis*): *Bacillus Cuenoti* (n. sp. L. MERCIER). C. R. Soc. Biol. T. LXI p. 682.

- 1904 PRENANT: Traité d'histologie. A. PRENANT, P. BOUIN et L. MAILLARD. T. I. Cytologie générale et spéciale. (Paris, Schleicher.)
 1892 WHEELER: The Emhryology of *Blatta Germanica* and *Doryphora Decemlineata*. Journ. of Morphology Vol. III No. 2 p. 291.

Explication des planches.

Planche XII.

Fig. 1. Portion d'une coupe sagittale d'un œuf ovarien de Blatte. — ZENKER. Hématoxyline ferrique. — *c.f* cellules folliculaires. *m* membrane vitelline. *a* amas de Bacilles. $\times 600$.

Fig. 2. Portion d'une coupe transversale d'un œuf de Blatte. — ZENKER. Hématoxyline ferrique. La figure II représente un œuf à un stade plus avancé que celui dessiné figure I. Les Bacilles *b* ont envahi le cytoplasme de l'œuf et sont épars au milieu des enclaves vitellines *v*. $\times 1100$.

Fig. 3. Portion d'une coupe d'embryon de Blatte pris dans l'oothèque. — Formol picrique. Hématoxyline ferrique, éosine. — *a* amas de Bacilles. $\times 160$.

Fig. 4. Elle correspond à la région marquée par la lettre A dans la figure précédente. — *b* *Bacillus cuenoti*. $\times 1100$.

Fig. 5. Tissu adipeux d'une Blatte adulte parasitée par un organisme à forme levure (!) Formol picrique. Hématoxyline ferrique, éosine *c*₁, *c*₂, *c*₃ 3 cellules à Bacilles. Ces microorganismes ont disparu des cellules *c*₁, *c*₂. Dans la cellule *c*₃, on voit deux Bacilles *b*₁ et *b*₂ en voie de division. $\times 1100$.

Fig. 6. *Bacillus cuenoti* dans un frottis de tissu adipeux de Blatte adulte maintenue dans de bonnes conditions de vie. Chaleur. Violet de Gentiane. *b* Bacilles en voie de division. $\times 1500$.

Fig. 7. *Bacillus cuenoti* dans un frottis de tissu adipeux de Blatte maintenue en inanition pendant 15 jours. Chaleur. Violet de Gentiane. *b* et *b*₁ Bacilles en voie de division. *b*₂ petits éléments à espace clair central. *b*₃ Bacilles en baguettes de tambour. $\times 1500$.

Fig. 8. *Bacillus cuenoti*, culture en bouillon. *b* formes longues du voile qui se forme à la surface du liquide (culture de 15 heures à 30° C). *b*₁ forme courte du liquide sous-jacent au voile (culture de 15 heures à 30° C). *b*₂ Bacilles en baguettes de tambour (culture de 48 heures). $\times 1500$.

Fig. 9. *Bacillus cuenoti* est pérित्रiche. Coloration des cils par la méthode de BENIGNETTI et GINO (culture de 12 heures sur gélose à 30° C). $\times 1500$.

Fig. 10. *Bacillus cuenoti* dans une vieille culture sur pomme de terre. Longs filaments (*b*) et spores (*s*). $\times 1500$.

Planche XIII.

Fig. 11. Culture sur pomme de terre. Les spores *s* sont mises en évidence par la double coloration à la fuchsine de ZIEHL et au bleu de méthylène. $\times 1500$.

Fig. 12. Coupe de tissu adipeux de Blatte adulte. Fixation à l'alcool au 1/2. Coloration par la méthode de GRAM. *c*₁, *c*₂, *c*₃, *c*₄ quatre cellules à Bacilles. *n*, *n*₁, *n*₂ noyaux de trois de ces cellules. $\times 600$.

Fig. 13. Coupe de tissu adipeux d'une Blatte infectée par l'organisme à forme levure (*l*) Formol picrique. Hématoxyline ferrique, éosine. *c* cellules à *Bacillus cuenoti*. Les Bacilles sont en voie de disparition. *f*₁ et *f*₂ Bacilles réunis en filaments. $\times 1500$.

Fig. 14. Grande cellule à Bacilles provenant du tissu adipeux d'une Blatte adulte. Formol picrique. Hématoxyline ferrique, éosine. *n* noyau lobé de la cellule. $\times 600$.

Fig. 15. Dernière phase de la division amitotique d'une grande cellule à Bacilles: Tissu adipeux de Blatte adulte. Formol picrique. Hématoxyline ferrique, éosine. *n*, *n*₁ noyau des deux futures cellules-filles dont on voit l'ébauche de la membrane de séparation *s*, le long de laquelle les Bacilles sont orientés. $\times 1100$.

Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

(Aus dem Zoologischen Institut zu Heidelberg.)

**Beiträge
zur Entwicklungsgeschichte der Myxosporidien.
Sphaeromyxa labrazei (LAVERAN et MESNIL).**

Von
Dr. Olaw Schröder.

(Hierzu Taf. XIV—XV und 3 Textfiguren.)

Inhalt.

	Seite
I. Material und Methoden	359
II. Morphologie von <i>Sphaeromyxa labrazei</i> LAVERAN et MESNIL	361
III. Die Sporenbildung	363
IV. Bedeutung der geschilderten Kernvorgänge	369
V. Vergleich mit den bisherigen Anschauungen über die Sporenbildung .	371
VI. Vermutlicher Entwicklungskreis von <i>Sphaeromyxa labrazei</i>	374
VII. Literatur	378
VIII. Tafelerklärung	378

I. Material und Methoden.

Die nachfolgenden Untersuchungen wurden an *Sphaeromyxa labrazei* LAVERAN u. MESNIL angestellt, von der ich in Rovigno (Istrien) im September und Oktober 1906 ein reiches Material gesammelt hatte. Diese *Myxosporidium*-Art bewohnt die Gallenblase des Seepferdchens (*Hippocampus guttulatus* CUVIER), und scheint sehr häufig vorzukommen. Jedenfalls erwiesen sich alle von mir unter-

suchten Seepferdchen als infiziert; LAVERAN u. MESNIL, die im Jahre 1900 diesen Parasiten zuerst beschrieben, geben gleichfalls an, daß alle sechs Exemplare von *Hippocampus brevisrostris* CUVIER, die ihnen von der zoologischen Station in Arcachon geschickt waren, ihn in der Gallenblase beherbergten.

Da mir diese Art in beliebiger Menge in Rovigno zur Verfügung stand und wegen ihrer Durchsichtigkeit und Größe zu einer genaueren Untersuchung der Kernverhältnisse sehr geeignet schien, so verzichtete ich einstweilen darauf, andere Myxosporidien zu suchen und beschränkte mich auf ihr Studium. Die Untersuchung lebender Exemplare erwies sich für die feineren Kernverhältnisse als wenig ergebnisreich, so daß ich bald darauf bedacht war, eine möglichst gute Konservierung zu finden. Zunächst versuchte ich die von DOFLEIN (1898) empfohlenen Methoden. Um gute Präparate der Harn- oder Gallenblasen bewohnenden Myxosporidien zu erhalten, strich DOFLEIN einen Tropfen der betreffenden Flüssigkeit mit den Myxosporidien in dünner Schicht auf dem Objektträger aus und fixierte die ganze Masse. Das dünne, dem Objektträger anhaftende Häutchen mit den Parasiten behandelte er wie einen Schnitt weiter. Diese Methode, die sicher für kleine Arten sehr geeignet ist, ergab in diesem Falle keine sehr guten Resultate. Dies lag erstens daran, daß die 1—5 mm großen Myxosporidien, die meist wie ein Ballen Papier ineinander gefaltet waren (siehe Taf. I, Fig. 2), sich nicht leicht lebend auf dem Objektträger flach ausbreiten ließen, ohne Verletzungen zu erleiden. Ferner koagulierte die Gallenflüssigkeit auch unter den Myxosporidien, sowie auf ihrer Oberfläche und beeinträchtigte dadurch die Durchsichtigkeit der später gefärbten Präparate.

Sehr guten Erfolg ergab folgende Behandlung. Die ganzen herauspräparierten Gallenblasen wurden in die Fixierungsflüssigkeiten gelegt und dann unter der Flüssigkeit angeschnitten, um ein schnelleres Eindringen der letzteren zu ermöglichen. Nach gutem Auswaschen wurden die Gallenblasen in 70proz. Alkohol überführt und darin aufbewahrt. Bei Anfertigung von Präparaten wurde dann die ganzen Gallenblasen vorsichtig angeschnitten und die durch den Alkohol gehärteten Tiere mit feinen Pinseln isoliert. Wieder in Wasser übertragen ließen sich die meisten Exemplare zufriedenstellend mittels feiner Pinsel ausbreiten, wobei auch die auf den Parasiten koagulierte Galle sich ablöste. Die so ausgebreiteten Myxosporidien wurden dann mit einem Spatel in die Färbungslösung und die anderen Flüssigkeiten übergeführt.

Zum Fixieren verwandte ich mit gutem Erfolg FLEMMING'sche und HERMANN'sche Lösung, besonders aber eine Mischung von gleichen Teilen konz. Sublimatlösung und absoluten Alkohol, die ich zuletzt ausschließlich benutzte. Ein Gemisch von 40 proz. Alkohol und Eisessig (100:5) bewährte sich nicht gut.

Zum Färben der ganzen Myxosporidien eignete sich eine schwache Lösung von DELAFIELD's Hämatoxylin oder Anwendung von Hämatoxylin-chromsaurem Kali in Rücksicht auf die Kerne am besten. Zur Schnittfärbung wurde außerdem mit gutem Erfolg Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN und die MALLORY'sche Färbung mit Säurefuchsin-Phosphormolybdänsäure-Anilinblau, Orange und Oxalsäure benutzt.

II. Morphologie der *Sphaeromyxa labrazei*

LAVERAN et MESNIL

Wie oben erwähnt, wurde diese Form zuerst von LAVERAN und MESNIL im Jahre 1900 beschrieben, deren Angaben über den Sitz der Parasiten und sein allgemeines Aussehen ich in den meisten Punkten bestätigen kann.

Sph. labrazei bewohnt sowohl die Gallenblase der Seepferdchen wie auch alle größeren Gallengänge. Der Umstand, daß in den letzteren nur kleinere Exemplare angetroffen werden, kann nicht als Beweis dafür aufgefaßt werden, daß die Infektion vom Darm aus durch die Gallengänge vor sich geht. Für die großen Exemplare sind die Gallengänge viel zu eng, da sie selbst in der Gallenblase nur im zusammengefalteten Zustand Platz finden. Nur die größeren Gallengänge enthielten außerdem Parasiten, die immerhin noch annähernd 1 mm Durchmesser hatten. Ich zweifle indessen nicht an der Möglichkeit einer Infektion vom Darm aus durch die Gallengänge, doch sind dafür einwandfreie Beweise noch nicht erbracht.

Der Körper von *Sphaeromyxa labrazei* hat die Gestalt einer flachen, annähernd kreisförmigen Scheibe, von einem Durchmesser bis zu $\frac{1}{2}$ cm. Die Dicke der Scheibe beträgt bei den größten Exemplaren nur 25–40 μ . Die Farbe der Myxosporidien ist weißlich, wodurch sich die Parasiten von der grünen Gallenflüssigkeit deutlich abheben und schon durch die Wand der intakten Gallenblase zu erkennen sind.

An den großen Exemplaren von 2 bis 5 mm Durchmesser, die

ich lebend beobachtete, konnte ich eine Bewegung nicht feststellen. Der Rand der Körperscheibe hat breite lappenartige Fortsätze, die durch Einbuchtungen voneinander getrennt sind, aber nicht den Eindruck von Pseudopodien machen. Dagegen fanden sich in dem von mir konservierten Material jüngere Exemplare von etwa 1 mm Durchmesser, deren Umriss ganz unregelmäßig gestaltet war. Diese letzteren mögen daher im Leben wohl eine lebhaftere Beweglichkeit zeigen als die großen Exemplare, denen jedenfalls nur eine geringe Bewegungsfähigkeit zukommt.

Betrachtet man ein lebendes oder konserviertes Exemplar bei stärkerer Vergrößerung, so erkennt man, daß der Körper deutlich in Ektoplasma und Entoplasma gesondert erscheint.

Das Ektoplasma bildet unter der ganzen Körperoberfläche eine nur 2 μ dicke Lage. Bei den lebenden Parasiten läßt es sich am Rande der Körperscheibe im optischen Durchschnitt sehr gut beobachten. Es erscheint dort als ein hyaliner Saum, der, scharf vom vakuolären Entoplasma gesondert, dasselbe nach außen begrenzt. An der Oberfläche des Ektoplasmas erkannte ich bei einigen Exemplaren einen zottenähnlichen, wenig über 1 μ hohen Besatz. Dieser war mir erst bei den letzten lebend untersuchten Exemplaren aufgefallen, so daß ich nicht mit Sicherheit sagen kann, ob er immer vorhanden ist. Dennoch glaube ich das letztere, da alle konservierten Exemplare ihn anwiesen.

Bei gefärbten Präparaten (Taf. I, Fig. 3 *epI*) bietet das Ektoplasma einen anderen Anblick. Es färbt sich mit Hämatoxylin stärker als das Entoplasma und zeigt dann außerdem eine feine radiäre Streifung, die an eine Alveolarschicht erinnert. Es ist auch nicht ausgeschlossen, daß das Ektoplasma als solche aufzufassen ist, indem es auf eine einzige Wabenschicht beschränkt ist.

Die Funktion des Ektoplasmas ist bei den großen Exemplaren hauptsächlich die einer schützenden Hülle für das gröber vakuoläre Entoplasma. Sowohl THÉLOHAN (1895, p. 202) als DOFLEIN (1898, p. 292) geben an, daß bei Verletzungen des Ektoplasmas die umgebende Körperflüssigkeit der Wirtstiere in das Entoplasma eindringt und dasselbe schädigt. Dieses tritt wohl bei gröberen Verletzungen ein, dagegen müssen wir annehmen, daß kleinere Risse durch das Ektoplasma wieder geschlossen werden können, da sonst der Durchbruch der Sporen durch das Ektoplasma das Myxosporid schädigen würde. Bei jüngeren Exemplaren wird außerdem das Ektoplasma bei der Pseudopodienbildung und Fortbewegung die Hauptrolle spielen, wie es bei anderen Arten oft beobachtet wurde.

Das Entoplasma ist, wie schon bemerkt, vaknolär, und verhält sich so, wie es THÉLOHAN (1895) von *Sphaeromyxa balbianii* und DOFLEIN (1898, p. 303) von *Sphaeromyxa incurvata* beschrieben haben. Die Vakuolen haben durch die dichte Aneinanderlagerung einen nahezu sechseckigen Querschnitt erhalten. Am Rande der Körperscheibe sind sie etwa $1\ \mu$ und nehmen nach Innen zu, bis sie eine durchschnittliche Größe von $4-8\ \mu$ erreichen. In den Knotenpunkten der Vakuolenwände liegen die einzelnen Kerne, und zu ihnen, wie zu den Pansporoblasten sind die Wände der angrenzenden Vakuolen senkrecht gerichtet, so daß eine Art Alveolarsaum gebildet wird (Fig. 3, 4 usw.). Schon DOFLEIN (1898, p. 302) hat mit Recht darauf hingewiesen, daß dieser Bau des Entoplasmas nicht als eine Wabenstruktur im Sinne BÜTSCHLI's aufzufassen ist, da die eigentliche, sehr feine Wabenstruktur in den Wänden der Vakuolen zu erkennen ist.

In den Vakuolenwänden sind sehr kleine, im Leben stark brechende Granula (Fig. 3g) verteilt, die unter dem Ektoplasma oft sehr dicht angehäuft sind. Diese Granula finden sich auch auf gefärbten Schnitten, da sie sich speziell mit Eisenhämatoxylin ziemlich intensiv färben. In Alkohol, Chloroform und Xylol lösen sie sich also nicht. Für nähere Angaben über diese Granula verweise ich auf die Untersuchungen von THÉLOHAN und DOFLEIN.

III. Die Sporenbildung.

Über die Bildung der Pansporoblasten und Sporen bin ich zu wesentlich anderen Resultaten gekommen als frühere Beobachter. Im Interesse der fortlaufenden Darstellung will ich in diesem Abschnitt nur meine eigenen Ergebnisse, die ich auch an anderer Stelle (1907) bereits kurz veröffentlicht habe, schildern, und erst im nächsten Abschnitt einen Vergleich mit früheren Angaben ziehen.

Betrachtet man ein großes Exemplar von *Sphaeromyxa labraresi* mit schwacher Vergrößerung, so erscheint das Entoplasma dicht erfüllt mit zahllosen Kernen. Bei stärkerer Vergrößerung erkennt man, daß letztere sich sowohl einzeln wie in Häufchen und in Pansporoblasten vorfinden. Die einzelnen Kerne (Fig. 3 N u. n, Fig. 4a und Fig. 5a u. b) sind von recht verschiedener Größe und Färbungsintensität. Es sind nämlich zwei typisch verschiedene Kernarten im Plasma vorhanden, die kaum miteinander zu verwechseln sind.

Fig. 4 a zeigt einen der kleinen, dunkel aussehenden d. h. dichteren Kerne, die stets nur von einer schmalen Plasmazone umgeben sind. Diese Kerne erreichen bis etwa 2μ Durchmesser. Meist ist von einem feineren Bau nichts zu erkennen, da sie sehr stark gefärbt sind. In anderen Fällen haben sie ein körniges Aussehen und weisen eine kleine Vakuole auf (Fig. 4 f). Sehr häufig finden sich Teilungsstadien, wie sie auf Fig. 4 b, c, d und e gezeichnet sind. Die Endprodukte dieser Teilungen sind Gruppen solcher Kerne (Fig. 4 f) oder ansehnliche Hanfen derselben, in welchen die Kernzahl noch beträchtlicher sein kann als auf Fig. 6 (n) dargestellt.

Nicht sicher zu entscheiden ist es, in welcher Weise, ob mitotisch oder amitotisch, die Kernteilung vollzogen wird. Immer wieder finden sich Bilder wie Fig. 4 b—f, die darüber keinen genaueren Aufschluß geben können. Es kann sich aber um keine typische Mitose handeln, da bei der Häufigkeit der Teilungsstadien sich andere Phasen derselben finden müßten. Aber auch an eine amitotische Zweiteilung erinnern die Teilungsbilder (Fig. 4 b) nicht eigentlich. Ich bin daher der Ansicht, daß es sich vielleicht um eine zurückgebildete und abgekürzte Art von Mitose handelt und werde darin durch später zu erwähnende Umstände bestärkt. Jedenfalls steht es fest, daß eine schnelle und fortgesetzte Kernvermehrung vorliegt, die schließlich zu derartigen Kernanhäufungen führen kann, wie ich auf Fig. 6 dargestellt habe.

Anders verhalten sich die großen Kerne (Fig. 5 a und b N). Die kleinsten derselben sind etwa 3μ groß und um sie herum findet sich eine schmale Plasmazone. Deutlich erkennt man eine Kernmembran, ferner ein Kerngerüst, in dessen Maschen besonders unter der Kernmembran Chromatingranula liegen, sowie einen nicht sehr großen Binnenkörper (b) und meist eine Vakuole (v). Auf Querschnitten durch ein Myxosporid (Fig. 3 N) sieht man, daß solche Kerne häufig dicht unter dem Ektoplasma liegen. Diese Kerne wachsen nun heran, bis sie etwa 4μ groß sind. Zugleich rücken sie von der Oberfläche ins Innere und sammeln eine ansehnliche Menge Protoplasma um sich, welches eine unregelmäßige Anhäufung bildet (Fig. 5 b). Der Bau der Kerne hat sich nicht verändert, nur ist er noch viel deutlicher geworden.

In diesem Stadium kann auch eine Vermehrung der großen Kerne stattfinden. Sie vollzieht sich zweifellos auf mitotischem Wege. Die Chromatingranula vereinigen sich zu einem Faden, der zuerst meist dicht unter der Kernmembran liegt, und verschmelzen miteinander (Fig. 5 c). Ein weiteres Teilungsbild eines solchen

Kernes zeigt Fig. 5d. Die Vermehrung ist auf diesem Stadium anscheinend eine recht geringe, da man nur äußerst selten Teilungsstadien antrifft. Nach der Teilung trennen sich die beiden neuen Kerne jedenfalls bald, worauf auch das sie umgebende Protoplasma in zwei Ansammlungen zerlegt wird, so daß dadurch zwei der auf Fig. 5b dargestellten Bildungen entstehen.

Die Entstehung eines Pansporoblasten wird nun dadurch eingeleitet, daß einer der kleinen Kerne (n) in die Protoplasamasse eines großen (N) eindringt. Die kleinen Kerne zerstreuen sich entweder von den Kernhäufchen aus im Entoplasma, und treffen dort mit den großen Kernen zusammen oder die großen Kerne in ihren Plasmaansammlungen nmlagern die Kernhäufchen (Fig. 6). Ist nun ein kleiner Kern in die Plasmazone eines großen eingedrungen, so sondert sich diese Plasmazone von dem umgebenden Entoplasma und die angrenzenden Wände der Vakuolen des Entoplasma bilden eine kugelige Hülle (Fig. 7) um den jungen Pansporoblasten. Häufig geschieht dies aber auch erst auf einem etwas späteren Stadium.

Eine Verschmelzung der beiden Kerne findet nicht statt, vielmehr wächst der kleinere (n) heran und wird dem Großen (N) ähnlich, ohne aber dessen Größe ganz zu erreichen. Bald darauf bereitet sich einer der Kerne, und zwar meist zuerst der größere, zur mitotischen Teilung vor (Fig. 8—15), dem bald darauf der andere Kern in ganz gleicher Weise folgt (Fig. 16).

An dieser Stelle will ich etwas näher auf die Teilung der Kerne eingehen. Fig. 8 stellt die Aueinanderreihung der Chromatingranula dar, welche darauf zu einem Faden (Fig. 9 n. 10) verschmelzen, der häufig unter der Oberfläche des Kernes verläuft (Fig. 10) und im optischen Durchschnitt dann peripher liegende dunkel gefärbte Kügelchen vortäuschen kann (Fig. 10). Wie die nächsten Teilungsvorgänge verlaufen, kann ich nicht mit voller Sicherheit sagen. Man findet Bilder, auf denen der Chromatinfaden kürzer und dicker erscheint (vgl. Fig. 5c) und ferner solche mit zwei Chromatinfäden (Fig. 11, 12, 13 u. 20). Ob diese beiden Fäden durch Spaltung des ursprünglichen Fadens entstanden sind, kann ich nicht entscheiden, doch sprechen die weiteren Befunde dafür. Die nächsten Stadien, die ich aufzufinden vermochte, sind Spindelbildungen, und das Chromatin hat sich bereits an die beiden Enden der Spindeln begeben (Fig. 14 u. 21), wo es zu einer kompakten Masse zusammenzieht (Fig. 15 n. 22), sich abrundet (Fig. 16) und zu neuen Kernen auflockert (Fig. 25), wobei die Fäden der Spindel manchmal noch er-

spindelförmig (Fig. 34). Die Polkapselanlagen sind größer geworden und haben sich in ihren Vakuolen hakenförmig zusammengekrümmt (Fig. 34 und 42). In ihnen erscheinen tropfenartige Einschlüsse, die von Hämatoxylin nicht gefärbt werden, bei Anwendung der MALLORYschen Methode dagegen orange werden, während sich der übrige Teil der Polkapselanlage blau färbt. Auch die Kerne haben sich inzwischen verändert. Die Schalenkerne (*schk*) werden etwas größer, länglich und flach; ihr Chromatin sammelt sich mehr und mehr unter der Kernmembran an. Die Amöboidkeimkerne erscheinen dagegen kleiner, eine Vakuole sowie ein Binnenkörper sind meist nicht mehr in ihnen zu erkennen. Die Polkapselkerne sind ebenfalls kleiner geworden; auch ihnen scheint ein Binnenkörper zu fehlen, dagegen ist die Vakuole meist noch vorhanden. Um die Polkapseln und ihre Kerne läßt sich in einigen Fällen eine dichtere mehr oder minder deutlich abgegrenzte Plasmazone feststellen (Fig. 34).

Ein etwas weiteres Entwicklungsstadium zeigt Fig. 35. Die Schalenkerne nehmen ein hohles, aufgequollenes Ansehen an. Um die Sporoblasten, die eine mehr sporenähnliche Gestalt erhalten haben, läßt sich bereits die spätere Schale deutlicher erkennen. Sie bildet eine feine Hülle, auf welcher einzelne Granula verteilt sind. Auf Fig. 36 nähern sich die Sporoblasten, jetzt wohl richtiger Sporen genannt, schon ihrer definitiven Gestalt. Die Schalenkerne (*schk*) haben ein vakuolenartiges Aussehen angenommen und zeigen keinerlei Struktur mehr. Die übrigen Kerne sind etwas kleiner und dichter geworden. Die Länge der Sporen beträgt jetzt etwa 28–30 μ bei einer Breite von 4 μ . Die Polkapselanlagen haben sich unterdessen weiter zurückgebogen, so daß die freien Enden des Hakens sich berühren (Fig. 43). Wie indessen ihre weitere Entwicklung verläuft, vermag ich nicht zu sagen. Reifere Sporen enthalten bereits an Stelle der hakenartigen Bildung einen birnförmigen Körper (Fig. 36 p), der noch heranwächst und zur endgültigen Kapsel wird. Der Spiralfaden, dessen Aufrollung in der Kapsel auf Fig. 45 dargestellt ist, stellt eine Einstülpung der Kapselwand dar.

Das weitere Heranreifen der Sporen bis zu ihrer endgültigen Gestalt ist mit einer Längen- und Dickenabnahme verbunden (Fig. 37). Die Schalenkerne schwinden endlich vollkommen, während die übrigen Kerne, die meist in einer Reihe angeordnet sind, kleiner und dichter werden, weshalb ihr feinerer Bau immer undeutlicher wird. Die Polkapseln haben jetzt ihre definitive Gestalt erlangt und in ihnen liegt der in wenigen Windungen aufgerollte verhältnismäßig dicke Faden. Auch jetzt wird jede Polkapsel noch von der

ursprünglichen Vakuole umgeben, die aber jetzt von der Kapsel fast ganz angefüllt ist. Die Sporenschalen sind noch nicht vollkommen ausgebildet, worauf ihre feine Körnelung hinweist,

Fig. 38 zeigt eine weitere Entwicklungsphase. Das Plasma hat sich in der Spore, deren Schalen jetzt ihre Ausbildung vollendet haben, in drei Teile geteilt, einen zweikernigen mittleren, den Amöboidkeim und zwei endständige, die den Polkapseln angehören. Die Polkapselkerne (*pk*) haben sich noch weiter verkleinert und eine etwa kappen- oder halbmondförmige Gestalt angenommen: sie liegen jetzt in dem Winkel zwischen der Polkapselvakuole und der konkaven Sporenwand. Die beiden Kerne (*ak*) des Amöboidkeims sind kaum noch $2\ \mu$ groß. Sie rücken allmählich gegeneinander, berühren sich (Fig. 39) und verschmelzen schließlich miteinander (Fig. 40 und 41).

Alle diese Vorgänge können sich vollziehen, während die Sporen noch paarweise im Pansporoblasten liegen, in dem auch die Restkerne noch zu erkennen sind. Sehr häufig trifft man aber bereits Sporen des in Fig. 38 abgebildeten Stadiums frei in der Gallenblase, bei denen sich die Kernverschmelzung demnach erst außerhalb des Myxosporids vollzieht.

Die fertige Spore besitzt auf der Schalenoberfläche eine sehr zarte Längsstreifung. Die Größenverhältnisse sind folgende:

Sporenlänge: $22-25\ \mu$,

Sporenbreite: $3-4\ \mu$,

Länge der Polkapseln: $8\ \mu$,

Breite der Polkapseln: $2-3\ \mu$,

Länge des Polfadens: etwa $12\ \mu$,

Durchmesser des Amöboidkeimkerns: $2\ \mu$.

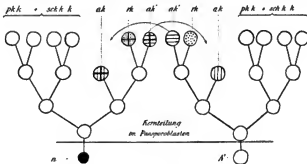
In einigen Fällen fand sich in knigigen Hohlräumen der *Sphaeromyxa*, anscheinend also Pansporoblasten, verschiedenartige, kernhaltige Gebilde (Fig. 46), die wohl sicher als Mißbildungen aufzufassen sind. Ich begnüge mich damit, darauf hingewiesen zu haben.

IV. Bedeutung der geschilderten Kernvorgänge.

Die zuletzt geschilderte Verschmelzung der beiden Kerne des Amöboidkeims kann meiner Ansicht nach nur als Karyogamie aufgefaßt werden. Wie läßt sich diese Auffassung aber in Einklang mit der Pansporoblastenbildung bringen? Wie wir fanden,

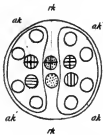
wird die Bildung des Pansporoblasten durch das Zusammentreten zweier ungleicher Kerne (n u. N) eingeleitet. Es läßt sich daher wohl nicht bezweifeln, daß einer der kopulierenden Kerne des Amöboidkeims von dem großen Kern (N), der andere von dem kleinen Kern (n) des ursprünglich zweikernigen Pansporoblasten abstammt. Daß eine Karyogamie vorliegt, dafür spricht auch die Restkernbildung, die als Reduktionsteilung je eines der beiden verschmelzenden Kerne zu deuten ist.

Zur Erläuterung dieser Kernvorgänge sollen die nebenstehenden beiden Schemata dienen. Auf ihnen ist auch die Bildung der



Textfig. 1.

Polkapsel- und Schalenkerne angedeutet. Mit Berücksichtigung der Bildung der Amöboidkeime und Restkerne und des Umstandes, daß je vier der anderen Kerne gleichwertig sein müssen, da aus ihnen gleiche Bildungen hervorgehen (vier Polkapseln und vier Schalen) läßt sich die Entstehung nur auf die dargestellte Weise erklären, wenn die Maximalzahl der Kerne vierzehn nicht überschreiten soll. Auch die Verteilung der Kerne auf die Sporoblasten ist auf dem Schema ohne weitere Erklärung ersichtlich (vgl. auch Fig. 30).



Textfig. 2.

Ich bin nicht der Ansicht, daß die Verschmelzung der Amöboidkeimkerne als Autogamie aufzufassen sei; vielmehr möchte ich dieselbe durch die Annahme erklären, daß vor Beginn der Pansporoblastenbildung eine Konjugation oder eine Verschmelzung (Plasmodiebildung) der jüngeren Myxosporidien stattfindet. Dies hat man sich so vorzustellen, daß entweder eine zeitweilige Verbindung zwischen zwei

Individuen entsteht, durch die ein Kernaustausch vermittelt wird; oder aber daß zwei oder mehrere Myxosporidien ganz miteinander verschmelzen.

Ferner kann in diesen beiden Fällen entweder schon die Differenzierung in große (N) und kleine (n) Kerne vollzogen sein, oder sie tritt erst aus bisher gleichartigen Kernen nach der Konjugation oder Verschmelzung ein. Näheren Aufschluß hierüber wird wohl nur das Studium lebender, besonders aber auch jüngerer Myxosporidien geben können. Nur auf einen Umstand möchte ich hier noch hinweisen, nämlich daß sie im Verhältnis zu den großen Kernen (N) schnelle Vermehrung der kleinen (n) es höchst wahrscheinlich macht, daß die ursprüngliche Anzahl der letzteren gering ist und dies erst durch die schnelle Teilung ausgeglichen wird. Bei ursprünglich indifferenten Kernen brauchte also nur eine geringe Anzahl sich zu kleinen Kernen (n) umzuwandeln, um nach kurzer Zeit den großen an Zahl gleichzukommen.

V. Vergleich mit den bisherigen Anschauungen über die Sporenbildung.

Die ersten Untersuchungen über die Sporenbildung der Myxosporidien verdanken wir BÜTSCHLI (1881), BALBIANI (1884) und THÉLOHAN (1895). Ihre Angaben wurden später von COHN (1895) und DOFLEIN (1898) im wesentlichen bestätigt. „Die Bildung der Sporen mit zwei Polkapseln soll auf folgende Weise verlaufen: Um einzelne Kerne im Myxosporid sondert sich eine Plasmakugel ab, wodurch die Anlage des Pansporoblasten gegeben ist. Der Kern teilt sich darauf mitotisch, bis acht oder zehn Kerne vorhanden sind. Dann teilt sich das Plasma des Pansporoblasten in zwei Sporoblasten, von denen jeder drei oder vier Kerne erhält, während zwei Kerne zurückbleiben. Wenn die Sporoblasten nur drei Kerne enthalten, so teilt sich der mittlere bald, so daß schließlich immer vier Kerne vorhanden sind, zwei Amöboidkeimkerne und zwei Polkapselkerne.“

Nur eine Angabe von COHN (1895) finde ich, die hiermit nicht in Einklang steht. Er erwähnt nämlich, daß er bei *Myxidium lieberkühni* BÜTSCHLI „manchmal, wenn auch nur selten, zwölf Kerne“ im Pansporoblasten gefunden habe.

Von diesen Darstellungen weichen meine Befunde an *Sphaero-*

myxa labrazei in mehreren Punkten ab, die ich hier kurz zusammenstellen will:

1. Treten immer zwei Kerne zur Bildung eines Pansporoblasten zusammen;
2. Die größte Anzahl der Kerne im Pansporoblasten beträgt vierzehn;
3. jeder Sporoblast erhält davon sechs Kerne; zwei bleiben als Restkerne zurück;
4. es sind im Sporoblasten von Anfang an zwei Amöboidkeimkerne vorhanden. Eine spätere Zweiteilung eines solchen Kernes tritt daher nicht ein, sondern eine Verschmelzung der zwei ursprünglich vorhandenen Kerne.

Auf welche Weise lassen sich nun die Gegensätze meiner Befunde mit früheren erklären? Wäre es nicht möglich, daß die verschiedenen Arten von Myxosporidien in der Sporoblastenbildung differieren? Ich halte dies wenigstens für die Hauptzüge der Entwicklung für ausgeschlossen, besonders da bei allen Arten die Endprodukte derselben, die Sporen, sich in der Kernzahl des Sporenkeims gleichen und nur in unwichtigen morphologischen Eigenschaften voneinander abweichen.

Die erste Bildungsphase des Pansporoblasten soll, wie von allen Autoren angegeben wird, dadurch entstehen, daß sich um einen Kern eine kugelige Plasmamasse bildet. Derartige Bilder habe auch ich bei *Myxidium lieberkühni* beobachtet, ich halte sie jedoch für gleichbedeutend mit dem auf Taf. XIV Fig. 5b dargestellten Stadium von *Sphaeromyxa labrazei*. Daß bei letzteren die Plasmamasse nicht kugelig ist, läßt sich vielleicht auf den grobvakuolären Bau des Körperplasmas zurückführen, während bei Arten mit gleichmäßig feinwabigem Plasma die gleichen Stadien wahrscheinlich kugelig sein werden. Alle späteren Kerne im Pansporoblasten wurden dann als Teilungsprodukte dieses ersten Kernes angesehen.

Auch in der Gesamtzahl der Kerne des Pansporoblasten glaube ich nicht, daß bei den Sporen mit zwei Polkapseln ein Unterschied vorhanden sein kann, diejenigen mit vier werden dagegen statt vierzehn achtzehn Kerne im Pansporoblasten aufweisen und in jedem Sporoblasten acht, wobei zwei Restkerne zurückbleiben. Denn es ist höchst unwahrscheinlich, daß wenn bei *Sphaeromyxa* die Sporenschalen durch Vermittlung und Auflösung von Schalenkernen entstehen, dies bei den anderen Myxosporidien nicht der Fall sein sollte, nmsomehr, als bei den verwandten Actinomyxidien die dreiklappige

Sporenschale in ganz analoger Weise aus drei Kernen gebildet wird, wie CAULLERY und MESNIL (1905) bewiesen haben.

Wenn ferner die Zweizahl der Amöboidkeimkerne durch die spätere Karyogamie ihre Erklärung fand, so liegt es wohl nahe, für die anderen Myxosporidien gleiche Vorgänge anzunehmen. Wenn es zuerst unglaublich erscheint, daß zwei differente Kerne zur Bildung des Pansporoblasten zusammentreten und erst zwei ihrer durch Teilung entstandenen Nachkommen verschmelzen, so kann ich auch hier auf einen ähnlichen Befund von CAULLERY und MESNIL (1905) bei *Sphaeractinomyxon* hinweisen, wo zwei in einer gemeinsamen Hülle liegende Kerne sich auf sechzehn vermehren und davon wahrscheinlich je zwei verschmelzen. Wie weit allerdings die Sphaeractinomyxiden entwicklungsgeschichtlich mit den Myxosporidien zu vergleichen sind, ist zurzeit noch ungewiß. Andererseits bestehen Angaben von THÉLOHAN (1895) und DOFLEIN (1898), welche, wenn sie nicht auf Irrtum beruhen, es vollkommen anschließen, daß sich im Amöboidkeim eine Karyogamie vollzieht. Ich will hier nur eine Stelle der Arbeit DOFLEIN's (1898, p. 309) anführen. Er sagt: „Die äußerlich vollendete Spore kann außer den zwei Kernen, welche die Polkapseln erzeugt haben, ein oder zwei Kerne im Sporenplasma enthalten. Ich kann jedoch die Beobachtung THÉLOHAN's bestätigen, daß, wenn zunächst nur ein Kern vorhanden ist, dieser sich teilt (ich habe oft in Sporen Mitosen gefunden), so daß der reife Amöboidkeim immer zweikernig ist.“ Wenn ich trotz dieser bestimmten Angabe DOFLEIN's glaube, daß ein Beobachtungsfehler vorliegt, so geschieht das nach Durchsicht von vielen Hunderten von Sporen. Bei allen unreifen, auf den in Figur 33–36 dargestellten Stadien befindlichen Sporen waren stets sechs Kerne vorhanden, alle Sporen vom Stadium Fig. 37 hatten deutlich vier getrennte Kerne und von den Sporen mit fertig ausgebildeten Schalen war die Hälfte noch zweikernig, viele davon mit zusammenliegenden Kernen, einige im Verlauf der Verschmelzung und etwa ein Drittel einkernig. Durch die Einkernigkeit der vollkommen reifen Sporen läßt sich auch erklären, daß die jüngsten Myxosporidienstadien, die DOFLEIN auffand, einkernig waren. DOFLEIN selbst meint (p. 315), dies sei nur durch die Annahme einer vorhergegangenen Befruchtung in einfacher Weise zu erklären, indem er annimmt, daß je zwei im Darm aus den Sporen ausgeschlüpfte zweikernige Amöboidkeime konjugieren, je einen Kern austauschen, der mit dem in jedem Individuum zurückgebliebenen Kern verschmilzt. Eine derartige Deutung will mir aber, abgesehen von meinen Befunden, schon deshalb nicht wahrscheinlich erscheinen,

weil sie nur unter der Voraussetzung möglich sein könnte, daß der Fisch, in dessen Darm die Sporenkeime auskriechen, zu gleicher Zeit Sporen verschiedener Myxosporidienexemplare gefressen haben müßte, denn eine Konjugation unter Sporenkeimen des gleichen Exemplares ist nicht wohl annehmbar. Diese Voraussetzung kann wohl ausnahmsweise einmal eintreffen, aber doch durchaus nicht häufig, was aber zur Erhaltung der Myxosporidienart notwendig wäre.

Wenn ich nach meinen Befunden annehme, daß bei allen Myxosporidien im Sporenkeim eine Karyogamie eintritt, so mag doch der Zeitpunkt derselben verschieden sein. Bei den frei in Körperhöhlen der Wirtstiere lebenden Arten, deren Sporen bald nach ihrer Ausbildung ausgestoßen werden, tritt wie bei *Sphaeromyxa labralesi*, wahrscheinlich die Karyogamie auch sehr bald in den ausgebildeten Sporen ein. Anders mögen sich indessen die Arten verhalten, die in Cysten vereint im Gewebe der Wirtstiere eingeschlossen sind, und erst nach Absterben der letzteren frei werden. Hier bleiben die Sporenkeime vielleicht längere Zeit noch zweikernig und die Karyogamie tritt erst nach dem Tode der Wirtstiere ein, wenn deren Gewebe nicht mehr frisch sind. Diese Vermutung hege ich deswegen, weil man fast immer in Cysten aus frisch konservierten Fischen, die nur ausgebildete Sporen enthalten, zweikernige Amöboidkeime antrifft. Dagegen fanden SCHUBERG und ich (1905) in mehreren mit einer *Myxobolus*- und einer *Henneguya*-Art stark infizierten Bachforellen, die längere Zeit nach ihrem Absterben konserviert worden waren, in sämtlichen zahlreichen Sporen nur einen Amöboidkeimkern. Dieser Befund, der damals von uns als ein eigentümlicher Zufall angesehen wurde, ist vielleicht geeignet, meine Hypothese zu stützen. Außerdem erklärt sich vielleicht der oft vergeblich gemachte Versuch einer künstlichen Infektion durch Verfüttern von Sporen dadurch, daß die von eben getöteten Fischen stammenden Sporen noch nicht ganz reif, also noch zweikernig waren, und zur Neuinfektion noch nicht geeignet waren.

VI. Vermutlicher Entwicklungskreis von *Sphaeromyxa labralesi*.

Leider sind unsere Kenntnisse jüngerer Myxosporidienstadien noch sehr gering und die Angaben darüber teilweise widersprechend. Dennoch läßt sich nach den Angaben von THÉLOHAN (1895), COHN

(1895) und DOFLEIN (1898) im Zusammenhang mit meinen Befunden, der Entwicklungskreis der frei in Körperhöhlen lebenden Arten, wie z. B. *Myxidium* und *Sphaeromyxa* jedenfalls in seinen Grundzügen darstellen.

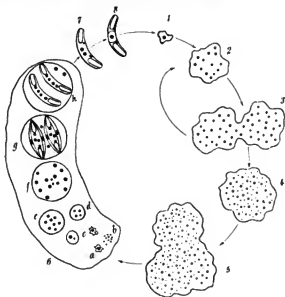
Ein Zwischenwirt ist bei diesen Formen wohl sicher auszuschließen. Die reife Spore mit einkernigem Amöboidkeim kommt direkt in den definitiven Wirt, indem sie von ihm mit der Nahrung aufgenommen wird. Hierbei werden die Spiralfäden der Polkapseln vielleicht eine Rolle spielen. Entweder sie schnellen (wie u. a. THÉLOHAN und DOFLEIN annehmen) erst in den Verdauungssäften des Wirtstieres aus und dienen zur Festheftung der Sporen am Darmepithel oder sie sind schon vorher im Wasser ausgeschwemmt und erhöhen die Schwebfähigkeit der Sporen. Auch zur Festheftung an Fremdkörpern, die von den Wirtstieren gefressen werden, mögen sie dienen und nachher im Darm die gleiche Funktion ausüben. Immerhin sind die Angaben von lebenden Sporen, deren Spiralfäden im Wasser ausgeschwemmt sind, spärlich (vgl. auch SCHRÖDER 1906).

Im Darm der Wirtstiere schlüpft der junge einkernige Sporenkeim aus. Der Weg, auf dem er zu seinem endgültigen Sitz im Wirt gelangt, ist noch ungewiß. Es ist jedoch von HOFER (1896), DOFLEIN (1898) und kürzlich von JOSEPH (1906) ein intracelluläres Eindringen der Jugendstadien für einige Arten bewiesen, so daß es mit ziemlicher Wahrscheinlichkeit auch für die anderen gilt, eine Ansicht, die bereits DOFLEIN (1899) vertreten hat. Bei vielen Arten werden die jungen Myxosporidien ferner die Blutbahnen zur Wanderung im Wirtskörper benutzen, doch ist für verschiedene Myxosporidien auch ein anderer Weg nicht auszuschließen. So könnten z. B. die Bewohner der Harn- und Gallenblasen, wie LÜHE (1900) anführt, vom Darm direkt in diese Organe gelangen. Bei einer von SCHUBERG (1905) und mir beschriebenen *Myxobolus*-Art erscheint es nicht ausgeschlossen, daß sie innerhalb der Nervenfasern sich im Wirt verbreitet hat.

Um die oft so starke Infektion der Wirtstiere zu erklären, müssen wir für viele Arten eine multiplikative Fortpflanzung annehmen. Im Jahre 1895 hat COHN von *Myxidium lieberkühni* eine Vermehrung durch Knospung beschrieben und 1898 beobachtete DOFLEIN bei *Chloromyxum leydigi* eine Vermehrung durch Zweiteilung. Nach LAVERAN u. MESNIL (1902) soll auch bei *Myxidium lieberkühni* nur eine Zweiteilung vorkommen.

Die von mir oben geschilderten geschlechtlichen Vorgänge im Verlaufe der Sporenbildung lassen sich durch eine Konjugation

zweier Exemplare oder Verschmelzung zweier oder mehrerer Exemplare vor Beginn der Sporenbildung erklären. In beiden Fällen kann die Differenzierung in die beiden Kernarten (N u. n) entweder schon vollzogen sein oder aber dieselbe würde erst später erfolgen. Bei der Konjugation würden z. B. zwischen den beiden Individuen indifferente Kerne ausgetauscht, die sich im anderen Organismus zu den kleinen Kernen differenzierten, oder aber von den bereits differenzierten Kernarten würde nur die eine ausgetauscht. Das gleiche gilt bei der Verschmelzung zweier oder mehrerer Exemplare, wobei entweder noch indifferente Kerne oder schon beide Kernarten vorhanden sind. Eines steht jedenfalls fest, daß nämlich die Anzahl der kleinen Kerne (n) ursprünglich geringer sein muß als die der großen (N), und nur durch die schnellere Vermehrung ihr gleich wird. Im Falle einer Konjugation würde ein Austausch einer geringen Anzahl von kleinen Kernen, oder Kernen, die sich im anderen Organismus zu solchen entwickeln, genügen, um bald durch die schnelle Vermehrung eine große Zahl entstehen zu lassen.



Textfig. 3.

Mit Rücksicht auf die eben besprochenen Beobachtungen an anderen Arten läßt sich der Entwicklungskreis von *Sphaeromyxa*

labraresi ohne Rücksicht auf den Weg, den der Parasit bis zur Gallenblase einschlägt, folgendermaßen darstellen (siehe nebenstehendes Schema): Aus der gefressenen, einkernigen Spore schlüpft im Darm des Seepferdchens der Sporenkeim (1) aus, wächst heran, indem sich zugleich seine Kernzahl vermehrt (2). Darauf erfolgt entweder eine Zweiteilung (3) oder eine Knospenbildung. Im weiteren Verlauf konjugieren zwei Exemplare, oder zwei oder mehrere verschmelzen (5), und vorher oder nachher entsteht die Kerndifferenzierung. Durch Zusammentreten eines großen (6a) und eines kleinen Kernes (6b) entsteht der Pansporoblast (6c), dessen Kerne sich bis auf vierzehn vermehren (6d—6k). Diese verteilen sich mit Ausnahme der beiden Restkerne auf die Sporoblasten, von denen jeder zwei Amöboidkeimkerne, zwei Schalenkerne und zwei Polkapselkerne erhält. Nach Ausbildung der Sporenschalen (7) verschmelzen die Amöboidkeimkerne, indem die reife Spore (8) entweder schon vorher oder jetzt ausgestoßen wird. Hiermit ist der Entwicklungskreis geschlossen.

Zusatz während der Korrektur.

Kn rz nach Abschluß meiner Arbeit machte mich Herr Dr. FR. DOFLEIN darauf aufmerksam, daß das Vorhandensein von Schalenkernen im vergangenen Jahre von LÉGER und HESSE in zwei Mitteilungen festgestellt worden sei. (LÉGER, L.: Sur une nouvelle maladie Myxosporidienne de la truite indigène. C. R. Acad. Sc. Paris 1906 T. 142 p. 655—656, und LÉGER et HESSE: Sur la structure de la paroi sporale des Myxosporidies. C. R. Acad. Sc. Paris 1906 T. 142 p. 720—722.) Mir waren diese beiden Mitteilungen nur dem Titel nach bekannt, da ich mich bisher vergeblich bemüht hatte, dieselben zu erhalten. Erst durch die Freundlichkeit des Herrn Dr. DOFLEIN, der mir die letzte der beiden Mitteilungen zur Ansicht sandte, lernte ich die Resultate von LÉGER und HESSE kennen.

Nachdem LÉGER zuerst bei *Chloromyxum truttae* erkannt hatte, daß bei der Bildung der Sporenschalen je eine kernhaltige Plasmapartie beteiligt sei, untersuchten LÉGER und HESSE mehrere andere den Gattungen *Myxidium myxobolus* und *Henneguya* angehörende Myxosporidienarten und konnten für alle das gleiche Verhalten feststellen. An dieser Stelle möchte ich auch darauf hinweisen, daß die von mir (1906 S. 192) bei Sporen von *Henneguya acerinae* an der Basis der Schwanzanhänge beschriebenen und abgebildeten Bläschen, deren Natur ich damals nicht erkannte, als Schalenkerne

zu deuten sind, wie die Beschreibung und Abbildung von LÉGER und HESSE, sowie eine erneute Durchsicht der Präparate ergeben haben.

Auf zwei weitere, im vorigen Jahre erschiene neue kurze Mitteilungen von M. L. MERCIER, die mir noch nicht bekannt waren, wurde ich durch Herrn Dr. M. HARTMANN hingewiesen. In der ersten (Phénomène de sexualité chez *Myxobolus pfeifferi*. Compt. rend. Soc. de Biol. 1906 t. 60 p. 427—428) beschreibt MERCIER das auch von mir beobachtete Zusammentreten zweier ungleicher Kerne zu einem Pansporoblasten. Er schreibt: „Dans la zone moyenne de l'endoplasme, on trouve de nombreux éléments constitués par une aire cytoplasmique individualisée autour d'un noyau. Fréquemment, ces éléments cellulaires sont disposés par couples; dans un tel couple, les deux éléments ne sont pas semblables. Il existe une différence sensible dans la taille des conjoints et les noyaux, à gros nucléole central, sont inégaux. Mais ces noyaux ne se fusionnent pas; le gros nucléole central se fragmente, les grains de chromatine résultant de cette fragmentation se portent vers la périphérie et bientôt deviennent épars dans le cytoplasme. C'est aux dépens de ces granules chromatiques que j'ai vu se constituer les noyaux qui deviendront les noyaux des sporoblastes.“

Während meine Resultate in betreff der ersten Bildung des Pansporoblasten mit den Ergebnissen von MERCIER ziemlich übereinzustimmen scheinen, weichen sie dagegen in Hinsicht auf die Kernvermehrung im Pansporoblasten erheblich ab, wie aus meiner Abhandlung genügend ersichtlich, so daß ich an dieser Stelle nicht noch einmal darauf einzugehen brauche.

In einer zweiten kurzen Mitteilung (Contribution à l'étude du développement des spores chez *Myxobolus pfeifferi*. Compt. rend. Soc. de Biol. 1906 t. 60 p. 763—764) schildert MERCIER die auch von HESSE und LÉGER (1906) erkannte Art der Schalenbildung, die durch meine zusammenhängenden Beobachtungen der Pansporoblasten- und Sporenbildung bestätigt werden. Dagegen decken sich MERCIER's Angaben über die Zahl der im Pansporoblasten enthaltenen Kerne, die nur zehn betragen soll, nicht mit meinen Befunden.

Heidelberg, Mai 1907.

Literaturverzeichnis.

- 1884 BALBIANI, E. G.: Leçons sur les Sporozoaires. Paris.
- 1881 BÜTCHLI, O.: Beiträge zur Kenntnis der Fischsporospermien. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. Vol. 35.
- 1905 CAULLERY et MESNIL: Recherches sur les Actinomyxidies 1. Sphaeractinomyxon stolci Caullery et Mesnil. in: Arch. f. Protistenk. Vol. 6.
- 1895 COHN, L.: Über die Myxosporidien von *Esox laevis* und *Perca fluviatilis*. in: Zool. Jahrb. Anat. Vol. 9.
- 1898 DOFFLEIN, FR.: Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. III. Über Myxosporidien. in: Zool. Jahrb. Anat. V. 11.
- 1899 —: Fortschritte auf dem Gebiete der Myxosporidienkunde. Zool. Centralbl. Jahrg. 6.
- 1896 HOFER, BR.: Die sogenannte Pockenkrankheit der Karpfen. in: Allgemeine Fischereizeitung.
- 1896 —: Die Infektion der Fische mit Myxosporidien. in: Allgem. Fischereizeitung.
- 1907 JOSEPH, H.: *Chloromyxum protei* n. sp., ein in der Niere des Grottenolmes parasitierendes Myxosporidium. in: Arch. f. Protistenk. Vol. 8.
- 1900 LAFRANCOIS et MESNIL: Sur une Myxosporidie des voies biliaires de l'Hippocampe. in: Compt. Rend. Soc. Biol. V. 52.
- 1902 —: Sur la multiplication endogène des Myxosporidies.
- 1900 LÜBE, M.: Ergebnisse der neueren Sporozoenforschung. Jena.
- 1906 SCHRÖDER, O.: Eine neue Myxosporidienart aus den Kiemen von *Acerina cernua* (*Henneguya acerinae* n. sp.). in: Arch. f. Protistenk. Vol. 7.
- 1907 —: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Myxosporidien. in: Verhandl. des Nat. med. Vereins zu Heidelberg N. F. Vol. 8.
- 1905 SCHUBERG, A. D. O. SCHRÖDER: Myxosporidien aus dem Nervensystem und der Haut der Bachforelle (*Myxobolus neurobius* n. sp. und *Henneguya nassini* n. sp.). in: Arch. f. Protistenk. Vol. 6.
- 1895 THÉLOHAN: Recherches sur les Myxosporidies. in: Bull. Sc. France Belgique Vol. 26.

Tafelerklärung.

Abgesehen von Fig. 1 und 2, die im Verhältnis von 15 : 1 resp. 40 : 1 gezeichnet sind, sind alle Figuren in 1500facher Vergrößerung, teilweise mit Benützung des Zeichenapparates dargestellt.

Figurenbezeichnung.

- ak = Amöboidkeimkern.
 b = Binnenkörper.
 bg = Bindegewebe.
 eg = Epithel der Gallenblase.
 epl = Ektoplasma des Myxosporids.
 g = Granula.
 jpp = Junger Pansporoblast.
 m = Myxosporidien.
 N = Große Kerne im Myxosporid.

- n = Kleine Kerne im Myxosporid.
 p = Polkapsel.
 pk = Polkapselkern.
 psp = Pansporoblast.
 rk = Restkern.
 $schk$ = Schalenkern.
 v = Vakuole in den Kernen.
 x = Kugeln im Pansporoblasten.

Tafel XIV.

- Fig. 1. Gesamtbild eines Myxosporids.
 Fig. 2. Schnitt durch eine infizierte Gallenblase.
 Fig. 3. Teil eines Querschnittes durch ein Myxosporid.
 Fig. 4 a—f. Kleine Kerne und Teilungsbilder derselben.
 Fig. 5 a—d. Große Kerne und Teilungsbilder derselben.
 Fig. 6. Ein Haufen kleiner Kerne (n), um ihn herum junge Pansporoblasten ($jpsp$); am oberen Rand große Kerne (N).
 Fig. 7. Junger zweikerniger Pansporoblast.
 Fig. 8—15. Desgl. ein Kern in Mitose.
 Fig. 16. Dreikerniger Pansporoblast, ein Kern in Mitose.
 Fig. 17. Vierkerniger Pansporoblast von der Fläche gesehen.
 Fig. 18—19. Desgl. von der Kante gesehen.
 Fig. 20. Desgl. ein Kern in Mitose.
 Fig. 21. Fünfkerniger Pansporoblast, ein Kern in Mitose.

Tafel XV.

- Fig. 22. Fünfkerniger Pansporoblast mit zwei Mitosen.
 Fig. 23. Fünfkerniger Pansporoblast.
 Fig. 24. Sechskerniger Pansporoblast.
 Fig. 25. Siebenkerniger Pansporoblast mit Kernspindel.
 Fig. 26. Zehnkerniger Pansporoblast.
 Fig. 27. Dreizehnkerniger Pansporoblast, acht Kerne liegen peripher, fünf in einer zentralen Plasmapartie, davon ist einer in Mitose, die zur Bildung des noch fehlenden einen Restkernes führt, während der zweite Restkern (rk) schon vorhanden ist. Außerdem finden sich außerhalb des Plasma drei dunkle Kugeln x .
 Fig. 28. Vierzehnkerniger Pansporoblast, in der zentralen Partie die beiden kleineren Restkerne (rk).
 Fig. 29. Desgl.
 Fig. 30. Trennung des Pansporoblasten in die beiden Sporoblasten. Von den sechs mittleren Kernen treten je zwei in einen Sporoblasten, während die beiden Restkerne zwischen den letzteren liegen bleiben. Vier Kugeln (x) außerhalb der Sporoblasten.
 Fig. 31. Die Trennung der Sporoblasten vollzogen. Die beiden Restkerne liegen ausnahmsweise getrennt. Vier Kugeln (x) vorhanden.
 Fig. 32. Desgl. Die vier Polkapselanlagen (p) haben sich gebildet.
 Fig. 33. Die Sporoblasten haben ellipsoide Gestalt angenommen. Ihre sechs Kerne haben eine bestimmte Lage angenommen und sind jetzt als zwei Amöboidkeimkerne (ak), zwei Polkerne (pk) und zwei Schalenkerne ($schk$) zu unterscheiden. Die Polkapseln haben langgestreckte spindelförmige Gestalt angenommen.

Fig. 34. Gestalt der Sporoblasten spindelförmig, Kerne wie auf Fig. 33. Polkapselanlagen hakenförmig gekrümmt.

Fig. 35. Sporoblasten zeigen bereits die Krümmung der fertigen Sporen. Schalenkerne vergrößert, die Anlage Sporenschalen deutlicher.

Fig. 36. Sporoblasten haben bereits Sporengestalt angenommen. Schalenkerne aufgequollen, die übrigen Kerne sind kleiner geworden.

Fig. 37. Junge Spore. Die Schalenkerne haben sich aufgelöst. Die anderen Kerne erscheinen kompakter und liegen in einer Reihe. Polkapseln bereits in ihrer definitiven Gestalt.

Fig. 38. Reifere Spore. Die Polkapselkerne sind in den Winkel zwischen der konkaven Sporenwand und die Polkapseln gerückt. Der Amöboidkeim hat sich abgesondert.

Fig. 39. Desgl. Die Amöboidkeimkerne in Verschmelzung.

Fig. 40. Desgl.

Fig. 41. Reife Spore nach vollzogener Karyogamie.

Fig. 42. Sporoblasten mit hakenförmig gekrümmten Polkapselanlagen. Kerne und Plasma nicht eingezeichnet.

Fig. 43. Polkapselbildungsstadium.

Fig. 44. Spore mit angeschnittenen Polkapselfäden.

Fig. 45. Polkapsel mit aufgerolltem Faden stark vergrößert.

Fig. 46. Mißbildungen in einem Pansporoblasten.

Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

(Aus dem Zoologischen Institut Heidelberg.)

Über
***Orcheobius herpobdellae* SCHUBERG et KUNZE,**
ein Coccidium aus *Herpobdella atomaria* CAR.
(*Nephelis vulgaris* MOQ.-TAND.)

Von
Wilhelm Kunze.

(Hierzu Tafel XVI—XVIII und 14 Textfiguren.)

Bereits im Hochsommer des Jahres 1899 fiel Herrn Professor SCHUBERG gelegentlich einer Exkursion auf, daß bei einem großen Teil der *Herpobdella atomaria* (*Nephelis vulgaris*), welche in den Altwässern des Neckar beim Kümmelbacher Hof, einige km oberhalb Heidelberg, gefunden wurden, die Ventralseite der hinteren Hälfte eigentümlich milchig weiß gefärbt war. Die Untersuchung ergab, daß die Hoden mit einem bisher unbekannten Sporozoon infiziert waren. Herr Professor SCHUBERG untersuchte den interessanten Organismus und seinen Entwicklungszyklus damals nur teilweise; vor einiger Zeit überließ er mir in freundlicher Weise die Bearbeitung des neuen Parasiten, die ich unter seiner beständigen Leitung im zoologischen Institut der Universität Heidelberg ausführte. Sowohl hierfür als auch für seine freundliche und wertvolle Unterstützung bei meinen Untersuchungen ihm meinen aufrichtigsten Dank zu sagen, ist mir eine angenehme Pflicht. Ebenso danke ich Herrn Geheimrat BÜRSCHLI für die wertvollen Ratschläge, die er mir erteilte. Äußere Umstände hinderten mich, die Untersuchungen über die Befruchtung ganz zu Ende zu führen. Herr Professor SCHUBERG hatte die Freundlichkeit

die Untersuchungen zum Abschluß zu bringen, und es sei hier auf die in den Verhandl. d. Deutsch. Zool. Gesellschaft erschienene vorläufige Mitteilung (SCHUBERG u. KUNZE 1906) verwiesen. Mit seiner freundlichen Erlaubnis, für die ich Herrn Professor SCHUBERG ebenfalls meinen aufrichtigen Dank sage, wurden einige von ihm gezeichnete Figuren in der vorliegenden Arbeit reproduziert.

Schon von Anfang an hatte sich gezeigt, daß das neue Sporozoon ein Coccidium ist, das in seiner Sporenbildung fast völlig mit der Gattung *Klossia* übereinstimmt. Während jedoch bei *Klossia* sowohl die Makrogameten als auch die Mikrogametocyten die Form eines Rotationsellipsoids haben, wie sie bei allen Coccidien mit Ausnahme von *Angeiocystis audouinii* (BRASIL 1904 B) verbreitet ist, besitzen bei dem Hodenparasiten der *Herpobdella* die reifen Makrogameten und Mikrogametocyten eine langgestreckte wurmförmige Gestalt, welche jener einer *Monocystis* nicht unähnlich ist, unterscheiden sich jedoch von ihr durch völlige Unbeweglichkeit. Darum erschien es angebracht, für den neuen Organismus eine neue Gattung zu bilden; nach seinem Wirt und dem Organ, in dem er lebt, erhielt er den Namen *Orcheobius herpobdellae* SCHUBERG u. KUNZE (vgl. die vorläufige Mitteilung SCHUBERG und KUNZE 1906).

Es ist dies das erste Coccidium, das aus einem Hirudineen bekannt wird. Von anderen Sporozoen wurden bisher, außer einer sehr wenig bekannten Form von durchaus zweifelhafter Stellung, nur Gregarinen und ein Hämosporidium aus Hirudineen angeführt. BOLSIUS (1895 und 96) und CASTLE (1900) fanden im Darm von Glossosiphonien Gregarinen, wahrscheinlich einer Art angehörend, welche in den letzten Jahren auch von Herrn Professor SCHUBERG gemeinsam mit den Herren LÜSER und DUKE mehrfach in Heidelberg beobachtet wurde. — KOWALEWSKY (1899 A und B) und CASTLE (1900) berichten von encystierten Sporozoen, welche in der Muskulatur von Glossosiphonien vorkommen, ohne jedoch irgend welche näheren Angaben über dieselben zu machen; KOWALEWSKY (1899 A) bezeichnet sie als Myxosporidien, CASTLE dagegen erwähnt die Möglichkeit, daß diese Sporozoencysten — vielleicht sind es andere als die von KOWALEWSKY beobachteten — zu dem Entwicklungskreis der Gregarine gehören könnten. — Endlich stellte SIEGEL (1903) fest, daß das Hämosporidium *Haemogregarina stepanovi*, das schon seit längerer Zeit aus der Schildkröte *Emys lutaria* bekannt war, seine geschlechtliche Fortpflanzung in dem Rüsseegel *Placobdella catenigera* durchmacht, welcher die Parasiten mit dem Blute der Schildkröten aufsaugt und die Neuinfektion anderer Schildkröten vermittelt.

Untersuchungsmethoden.

Zur Untersuchung der aus dem Wirtstiere isolierten Parasiten werden die Herpobdellen lebend, mit der Dorsalseite nach unten, in einem Präparierschälchen festgesteckt und mit physiologischer Kochsalzlösung übergossen. Dann werden in der ventralen Seite der hinteren Körperregion, etwas seitlich von der Medianlinie, mit dem Skalpell einige Schnitte gemacht, durch die der Hoden angeschnitten wird, ohne daß man jedoch den Darm verletzt. Der Hodeninhalt, der aus den Wunden herausquillt, wird mit einer Pipette auf einen Objektträger gebracht und dort lebend in physiologischer Kochsalzlösung untersucht. Auch Eiweißlösung erwies sich hierzu geeignet. In beiden Flüssigkeiten hielten sich die Sporozoen einige Stunden lang lebend.

Von größter Wichtigkeit war das Studium einer möglichst großen Zahl von gefärbten Totalpräparaten und Schnitten. Man erhält recht gute Präparate, wenn man den mit Kochsalzlösung vermischten Hodeninhalt unter dem Deckglas mit einer Mischung von einem Volumteil Eisessig und vier Volumteilen absolutem Alkohol fixiert, mit Wasser auswäscht und dann mit verdünntem angesäuertem DELAFIELD'schem Hämatoxylin färbt. Wird die Färbung nicht von vornherein genügend different, so läßt man noch angesäuerten Alkohol und darauf, um die saure Reaktion wieder auszugleichen, ammoniakalischen Alkohol einwirken.

Dann werden die Präparate in Kanadabalsam übergeführt.

Als vollwertiger Ersatz für Totalpräparate können auch dicke Schnitte durch eine infizierte *Herpobdella* dienen, welche für das Studium der Schizogonie $15\ \mu$, für das Studium der Sporogonie mindestens $30\ \mu$ dick sein müssen.

Sowohl zu diesen dicken Schnitten als auch zu dünneren wurden fast ausschließlich Herpobdellen verarbeitet, welche mit Alkohol-Eisessig (s. oben) konserviert waren; ich erhielt dabei ausgezeichnete Resultate. Sowohl die Sporozoen als auch die Gewebe des Wirtstiers waren vorzüglich erhalten.

Sehr gute Kernfärbungen ergab, als Stückfärbung angewandt, Boraxkarmin, mit angesäuertem Alkohol differenziert. Die so vorgefärbten Schnitte wurden in verschiedener Weise nachgefärbt: mit Bleu de Lyon (0,5 Proz. in 70proz. Alkohol), mit Bleu de Lyon und Bismarckbraun (letzteres 0,5 Proz. in Wasser), mit BLOCHMANN'scher Lösung (0,01 Proz. Triphenylrosanilintrisulfosaures Natron in konzentrierter wässriger Pikrinsäurelösung) oder schließlich mit einer

Mischung von 100 Teilen einprozentiger wässriger Nigrosinlösung und 9 Teilen konzentrierter wässriger Pikrinsäurelösung. Obwohl alle genannten Nachfärbungen gute Resultate ergaben, wurden dicke Schnitte (30 μ) mitunter gar nicht nachgefärbt.

Für dünnere Schnitte eignet sich auch recht gut die von SCHUBERG (1903) angegebene Kombination von Boraxkarmin mit der R. HEIDENHAIN'schen Hämatoxylinmethode (Stückfärbung: Boraxkarmin 12—24 Stunden, angesäuerter Alkohol 12—24 Stunden, 0,25 Proz. Hämatoxylin in 2 Proz. Alkohol 24 Stunden, 0,25 Proz. Kaliummonochromat in Wasser 12—24 Stunden). Hierdurch wurde eine brauchbare Kern- und Plasmafärbung erzielt.

Als Kernfarbstoff für Färbung der Schnitte auf dem Objektträger wurde stark verdünntes Hämatoxylin bevorzugt. (3—5 Tropfen auf 30 ccm Wasser mit einer ganz kleinen Spnr Essigsäure). Man erhält dann bei mehrstündiger Färbung ohne nachträgliche Differenzierung klare Kernbilder. (Vgl. SCHAUDINN 1900). Zur Nachfärbung benutzte ich Eosin; häufig jedoch wandte ich gar keine Nachfärbung an.

Von Anilinfarbstoffen wurden gelegentlich zur Kernfärbung benutzt: Safranin, Thionin, Dahlia nach SCHUBERG (1903) (0,3—1 Proz. in 15—20 Proz. wässriger Essigsäure) und polychromes Methylenblau. Letztere drei wurden in der von SCHUBERG (1903) angegebenen Weise fixiert, indem die Präparate 2 Minuten lang mit einer 10 Proz. wässrigen Tanninlösung und nach kurzem Abspülen in Wasser 3 Minuten lang mit einer 3 Proz. Lösung von Brechweinstein in Wasser behandelt wurden. Alle vier Farbstoffe gaben recht klare Kernbilder, doch zeigten sie nichts, was man nicht auch auf Hämatoxylinpräparaten sehen kann. Die Dahliapräparate wurden zum Teil mit Eosin oder Orange G nachgefärbt.

Mit der FLEMMING'schen Färbung (Safranin-Gentianaviolett-Orange G) erhielt ich keine günstigen Resultate; ich habe übrigens diese Färbung nur auf Schnitte von Eisessig-Alkohol-Material angewandt; vielleicht hängt der mangelhafte Erfolg hiermit zusammen.

Es bleibt nur noch zu erwähnen, daß ich auch mit Erfolg die HEIDENHAIN'sche Eisenhämatoxylinfärbung anwandte, und zwar sowohl nach Bordeaux R als auch vor Säurefuchsin.

Übersicht über den Entwicklungszyklus von *Orcheobius herpobdellae*.

Bevor ich mich zur genaueren Darstellung des Entwicklungsganges von *Orcheobius* wende, möchte ich eine kurze Übersicht über denselben hier einschalten.

Die jüngsten Infektionsstadien beobachtete ich nur im Frühjahr, und zwar von Anfang April ab. Die Art, wie die Infektion erfolgt, gelang mir leider nicht festzustellen. In den Hoden, und zwar innerhalb der Cytophoren, findet zunächst eine Fortpflanzung durch gleichzeitigen Zerfall (Schizogonie) der durch wiederholte Zweiteilung des Kerns vielkernig gewordenen Schizonten in 12–20 Tochterindividuen (Merozoiten) statt. Man findet die entsprechenden Stadien von Anfang April bis Mitte Mai. Dann werden die freigewordenen Merozoiten von den im Hoden reichlich vorhandenen Lymphocyten aufgenommen und wachsen, von ihnen umhüllt, zu Makrogameten und Mikrogametocyten heran. Aus jeder Mikrogametocyte bilden sich vier Mikrogameten, ähnlich wie dies von verschiedenen anderen Coccidien beschrieben wurde. Nach vollzogener Kopulation der Makro- und Mikrogameten encystiert sich die Zygote und zerfällt in etwa 25–30 Sporocysten (Sporogonie), deren jede vier Sporozoiten und einen ansehnlichen Restkörper enthält. Die Kopulation erfolgt in der Zeit von Anfang Juni bis etwa zum 20. Juli; die reifen Oocysten findet man im Hoden der Herpobdellen von Anfang Juni bis Anfang August. Im August gehen viele Herpobdellen zugrunde. Von Mitte August bis Ende März wurden keine infizierten Herpobdellen gefunden.

Schizogonie.

Wie schon erwähnt, wurden die frühesten Stadien des *Orcheobius* Anfang April aufgefunden. Die jungen Parasiten liegen im Hoden innerhalb von Cytophoren, welche mit Spermatiden oder Spermatozoen dicht besetzt sind, und zwar liegen sie in Vakuolen, die wenig größer sind als sie selbst (vgl. Fig. 22). Meist liegt nur ein Parasit in einem Cytophor, doch kommt bisweilen auch Doppelinfektion vor.

Zur Untersuchung dieser Stadien sind im allgemeinen Schnitte von etwa 15 μ Dicke vorteilhafter als gefärbte Totalpräparate, da die Untersuchung der Parasiten durch die viel Chromatin enthaltenden Spermatozoen oder Spermatiden, welche die Cytophoren umgeben, erschwert wird. In Schnitten von der angegebenen Dicke findet man häufig die Orcheobien selbst unverletzt, während über und unter ihnen die chromatinreiche Hülle von den Cytophoren abgeschnitten ist. Natürlich muß man daneben auch dünnere Schnitte studieren.

Die heranwachsenden Schizonten (Fig. 1 u. 22), haben eine längliche Form; das eine Ende ist etwas zugespitzt, das andere mehr abgerundet. Das Protoplasma ist ziemlich stark lichtbrechend; es zeigt eine sehr feinwabige Struktur (Fig. 22), die man leider nur

auf gefärbten Schnitten erkennen kann, da ihre Beobachtung am lebenden Schizonten durch das ihn umgebende etwa 30μ dicke Cytophor unmöglich gemacht wird. Das Plasma enthält neben feinsten, in den Ecken des Wabenwerks liegenden Körnchen keinerlei gröbere Granulationen.

Ziemlich in der Mitte liegt der Kern, der am lebenden Objekt (Fig. 1) nur als heller Fleck wahrnehmbar ist. In gefärbten Präparaten (Fig. 22) erkennt man, daß er im Centrum einen relativ sehr großen, kugligen Binnenkörper enthält, der sich mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin hellviolett, mit Hämatoxylin und Kaliummonochromat (nach Vorfärbung mit Boraxkarmin) schiefergrau färbt. Da er sich mit Hämatoxylin dunkler tingiert als der weiter unten zu besprechende Binnenkörper der Makrogameten und der jüngeren Mikrogametocyten, so vermute ich, daß er aus einer Mischung von Chromatin und Plastin hervorgegangen ist; leider konnte jedoch von seiner Bildung nichts beobachtet werden. Mitunter waren im Binnenkörper kleine Vakuolen zu bemerken, wie sie auch aus den Binnenkörpern anderer Coccidien bekannt geworden sind. Dem Binnenkörper ist eine größere Anzahl kleiner Chromatinkörnchen dicht angelagert, in einer kaum färbbaren schmalen Zone, die nur aus einer Wabenschicht besteht. Eine membranöse Abgrenzung dieser Zone gegen das umgebende Plasma konnte nicht wahrgenommen werden; trotzdem bin ich, mit Rücksicht auf die Lage der Chromatinkörner, der Ansicht, daß sie zum Kern gehört und dem Hohlraum der bläschenförmigen Kerne anderer Zellen entsprechen dürfte. Der Schizontenkern von *Orcheobius herpobdellae* hat demnach einen ähnlichen Bau, wie ihn der Schizontenkern von *Eimeria*¹⁾ *schubergi* vorübergehend auf dem Stadium zeigt, das SCHAUDINN (1900) in seinen Figuren 4, 26 und 27 abbildet. Die jungen Schizonten wachsen in den Cytophoren heran. Wenn sie eine gewisse Größe erreicht haben, runden sie sich ab, und es erfolgt als Einleitung zur Schizogonie eine Zweiteilung des Kerns. Von dieser ersten Kernteilung wurde leider nur ein sehr frühes Stadium gesehen (vgl. Fig. 23). Der Binnenkörper war in die Länge gestreckt, senkrecht zur Achse des noch nicht völlig abgerundeten Zellkörpers, und die Chromatinkörner hatten sich an beiden Polen des Binnenkörpers angesammelt. Mitunter ist die erste Kernteilung vollendet, bevor der junge Schizont sich völlig abgerundet hat. Ähnliches wurde übrigens auch von SCHAUDINN (1900) bei *Eimeria schubergi* gelegentlich beobachtet.

¹⁾ Betreffs der Nomenklatur der Gattungen und Arten verweise ich auf LÜNK (1903).

Nach der ersten Teilung begeben sich die zwei Teilkerne dicht unter die Oberfläche der Zelle (Fig. 24). Ihre Form ist etwa kuglig; sie enthalten einen centralen Binnenkörper, dem eine Anzahl von Chromatinkörnchen angelagert ist, welche ihn mitunter vollständig umhüllen, mitunter dagegen etwas exzentrisch liegen (Fig. 24). Vielleicht ist diese letztere Erscheinung der Ausdruck der soeben erst vollzogenen Teilung. Zwischen den einzelnen Chromatinkörnern findet sich ein Netz von feinen Verbindungsfäden, welche dem Binnenkörper dicht anliegen. Sie färben sich mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin, wenn auch etwas schwächer als die Chromatinkörnchen, so doch immerhin recht deutlich, sind also chromatischer Natur. Wenn man die Lösung konzentrierter anwendet, als oben (S. 385) angegeben wurde und nicht sehr stark extrahiert, ist die Färbung der Fäden sogar so stark, daß die Körnchen nur als leichte Verdickungen in den Knotenpunkten des Netzwerkes erscheinen. Bei Anwendung stark verdünnter Lösungen von DELAFIELD'schem Hämatoxylin dagegen sind die Körnchen sehr deutlich sichtbar, ebenso bei Färbung mit Boraxkarmin, Hämatoxylin und Kaliummonochromat (Fig. 24) und bei Behandlung mit HEIDENHAIN'schem Eisenhämatoxylin. Bei Anwendung letzterer Methode werden, wenn genügend extrahiert wurde, die Fäden ganz farblos, während die Chromatinkörnchen den Farbstoff nicht leicht abgeben, so daß sie äußerst deutlich hervortreten.

Auf die erste Kernteilung folgen wiederholte Teilungen der Tochterkerne, bis der Schizont etwa 12—20 Kerne enthält. Auch während dieser Stadien bleiben die Kerne stets so dicht unter der Oberfläche liegen, daß sie nur von einer ganz dünnen Plasmaschicht bedeckt sind. Sowohl während der Kernteilungen als auch auf den dazwischen eingeschalteten Ruhestadien sind die oben erwähnten, zwischen den Chromatinkörnchen ausgespannten Verbindungsfäden vorhanden.

Während der Ruhe sind die Kerne auf den späteren Stadien der Schizogonie überhaupt ähnlich gebaut wie auf dem zweikernigen Stadium. Ihre Form ist etwa kuglig (Fig. 25 und 26); eine centrale, durch Teilung des Binnenkörpers entstandene Masse ist von einem Chromatinnetz umgeben, dessen Ecken verdickt sind, resp. in dessen Ecken eine Anzahl (meist 8) relativ großer Chromatinkörner liegen. (Auf den Figuren konnten natürlich niemals alle 8 Chromatinkörner eingezeichnet werden, da sie sich zum Teil gegenseitig verdecken.) Auf diesen späteren Schizogoniestadien ist die aus dem Binnenkörper hervorgegangene centrale Masse bei Färbung mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin nicht mehr zu erkennen, da sie von dem stark färb-

baren Chromatin verdeckt wird (Fig. 26), während sie selbst fast ungefärbt bleibt, woraus hervorgeht, daß sie jetzt kein Chromatin mehr enthält. Dagegen erscheint sie als kompakte hellrötliche Kugel, wenn man die Präparate mit Bordeaux R und darauf nach der HEIDENHAIN'schen Eisenhämatoxylin-Methode behandelt. Vakuolen sind auf diesem Stadium in ihr nicht vorhanden. Die geschilderten Kernbestandteile liegen direkt im Plasma; ein Kernhohlraum oder gar eine Kernmembran ist nicht wahrzunehmen.

Die Kernteilungen der späteren Schizogoniestadien wurden häufig beobachtet. Ihr Verlauf ist sehr einfach. Spindelfasern oder Chromosomen treten nicht auf. Es streckt sich einfach der ganze Kern, sowohl die vom Binnenkörper herstammende zentrale Masse als das umgebende Chromatin, in die Länge (Fig. 26); er schnürt sich dann durch, wie die Fig. 25 und 27 zeigen, und die beiden Teilstücke rücken, indem sie dicht unter der Oberfläche liegen bleiben, aneinander. Ein Zwischenkörper wurde nicht gesehen. — Es handelt sich also nur um eine sehr einfache direkte Kernteilung.

Dadurch, daß die Kerne der Merozoiten aus dem Schizontenkern durch wiederholte Zweiteilung hervorgehen, weicht *Orcheobius herpobdellae* von einer Anzahl ihm sonst nahe verwandter Coccidien ab; bei *Klossia helicina* nämlich (nach LÁVERAN 1898) sowie bei den verschiedenen *Adelea*-Arten (SIEDLECKI 1899 A, PÉREZ 1899 und 1903, LÉGER 1904 B) findet an der entsprechenden Stelle eine multiple Kernteilung statt. Dagegen stimmt *Orcheobius* in dieser Hinsicht z. B. überein mit den von SCHAUDINN (1900 und 1902) untersuchten *Eimeria schubergi* und *Cyclospora caryolytica*. Doch weicht die Art der Kernteilung bei der Schizogonie dieser Formen in ihren Einzelheiten nicht unwesentlich ab von dem, was bei *Orcheobius* festgestellt werden konnte. Zwar bleibt bei dieser Form ebenso wie bei den zwei erstgenannten der Binnenkörper während der Kernteilung erhalten, doch gibt er im Gegensatz zu ihnen sein Chromatin ab; ferner ist er bei *Orcheobius* relativ größer. Das Wesentlichste ist wohl, daß bei *Eimeria schubergi* und *Cyclospora caryolytica* der Binnenkörper die Rolle eines Nukleolo-Centrosoms spielt, was bei *Orcheobius* keineswegs der Fall ist; ferner tritt bei beiden von SCHAUDINN untersuchten Formen ein Zwischenkörper auf, bei *Orcheobius* dagegen nicht.

Erwähnenswert dürfte wohl sein, daß, wie wir noch sehen werden, in der ganzen Entwicklung von *Orcheobius herpobdellae* eine multiple Kernteilung überhaupt nicht vorkommt, während bei den zwei genannten Formen und bei *Eucoccidium eberthi*, dem die Schizogonie

nach SIEDLECKI's (1898) Untersuchungen fehlt, wenigstens vor der Mikrogametenbildung eine multiple Kernteilung erfolgt. Das einzige bisher vollständig untersuchte Coccidium, bei dem der Kern sich nur durch Zweiteilung vermehrt, scheint *Caryotropha mesnili* zu sein nach SIEDLECKI (1902).

Wenn die Anzahl der Kerne 12–20 beträgt, beginnt die Zellteilung. Die Kerne wölben, zunächst unregelmäßig nach allen Seiten, das sie umgebende Plasma etwas über die Oberfläche des Schizonten vor (Fig. 28). Dann entstehen zwischen den einzelnen Vorwölbungen Furchen, welche ziemlich tief in das Plasma eindringen und alle einigermaßen parallel verlaufen, also alle auf der gleichen Halbierungsebene des Schizonten senkrecht stehen, welcher sie sich von zwei Seiten her nähern. Dadurch, daß diese Furchen sich immer weiter vertiefen, werden die einzelnen Merozoiten, deren jeder einen Kern enthält, allmählich voneinander gesondert. Da ihre distalen Enden anfangs nach allen Seiten hervorragten, jetzt aber nur nach zwei Seiten, so muß bei Beginn der Furchenbildung eine Umordnung der distalen Enden erfolgt sein. Während die Furchen sich vertiefen, rücken die Kerne allmählich von den distalen Enden fort. Es entstehen so die Gebilde, welche die Figuren 2 und 29 zeigen und die durch PÉREZ (1903) auch von *Adelea mesnili* bekannt geworden sind. Mitunter verläuft der Prozeß auch etwas unregelmäßiger (Fig. 3). Wenn die Furchen von beiden Seiten her vollständig durchgedrungen sind, trennen sich die Merozoiten voneinander. Ein Restkörper bleibt nicht zurück. Im Gegensatz zu der Kernteilung ist also die Teilung des Zellkörpers eine simultane. Nach Beendigung der Schizogonie liegen die Merozoiten in einer relativ engen Vakuole des befallenen Cytophors in einem Bündel, in welchem sie nicht radiär wie etwa bei *Eimeria schubergi* (nach SCHAUDINN 1900), sondern parallel angeordnet sind (vgl. Fig. 30). Es erinnert das stark an die von vielen Coccidien bekannt gewordenen „stades en barillet“ der französischen Forscher.

Zu Anfang April findet man nur sehr vereinzelte Orcheobien in den infizierten Herpobdellen. Später dagegen sind diese häufig sehr stark infiziert. Es ist daher zu vermuten, daß die Schizogonie sich mehrmals wiederholt wie bei anderen Coccidien. Diese Annahme wird gestützt durch die Tatsache, daß die Schizogoniestadien etwa einen Monat lang, von Anfang April bis etwa zum 10. Mai, beobachtet werden können, und daß während dieser ganzen Zeit noch keine der weiter unten zu beschreibenden Stadien auftreten. Immerhin kann man es auch für möglich halten, daß die Masseninfektionen

durch wiederholte Neinfektion hervorgebracht werden (eine reife Sporocyste enthält über 100 Sporozoiten!), weshalb ich hierüber keine bestimmten Angaben machen kann. Wie die Merozoiten, an denen ich keinerlei Bewegung beobachten konnte, im Falle der Wiederholung der Schizogonie von einem Cytophor in andere gelangen könnten, ist mir nicht verständlich. Ein Unterschied zwischen späteren und früheren Schizogonien übrigens, wie ihn SCHAUDINN (1900) von *Eimeria schubergi* beschreibt, ist jedenfalls nicht vorhanden; ebensowenig konnte ich während der Schizogonie irgend welche sexuelle Differenzierung erkennen, worauf ich noch zurückkommen werde.

Die Merozoiten.

Die Merozoiten (Fig. 4 und 31) haben eine längliche Gestalt; ihre beiden Enden sind gleichmäßig gebildet, nämlich leicht abgerundet. Ihre Struktur ist äußerst feinwabig, gröbere Einschlüsse sind im Plasma nicht vorhanden. Der Kern liegt ungefähr in der Mitte und ist im Leben schon als heller Fleck nachweisbar. Während des Zerfalls des Schizonten in die Merozoiten sind die Verbindungen zwischen den Chromatinkörnern auch mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin schwach färbbar geworden, so daß auch bei dieser Färbung die vom Binnenkörper herstammende centrale Masse wieder deutlich hervortritt, umgeben von einer Anzahl, meist etwa 8, größerer Chromatinkörner. Der Binnenkörper ist auch auf diesem Stadium mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin kaum färbbar.

Die jungen Merozoiten der letzten Generation konnte ich in der ersten Hälfte des Mai häufig frei in der Hodenflüssigkeit beobachten. In ihnen ist die zwischen den Chromatinkörnern liegende centrale Masse mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin kaum, mit Eosin sehr deutlich färbbar; der Binnenkörper hatte sein Chromatin, wie schon oben bemerkt wurde, während der Schizogonie-Kernteilungen abgegeben. — Die etwa 8 groben Chromatinkörner lagern sich ihm sehr bald häufig etwas exzentrisch an (Fig. 33). Bei etwas älteren Merozoiten erkennt man dann an der von Chromatinkörnern freien Seite des Binnenkörpers, daß an seiner Oberfläche eine dünne, membranartige Schicht sich ausgebildet hat (Fig. 33), die sich mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin und anderen Kernfarbstoffen deutlich färbt, also chromatischer Natur ist. Es ist also jetzt wieder ein aus Plasm und Chromatin bestehender Binnenkörper vorhanden. Die dünne chromatische membranartige Schicht dürfte wohl der äußeren, aus Chromatin bestehenden, jedoch weit dickeren Zone entsprechen,

welche von dem Binnenkörper mehrerer anderer Sporozoen bekannt geworden ist, z. B. durch SIEDLECKI (1898) von *Eucoccidium eberthi*.¹⁾ Das bei letzterer Art von dem genannten Forscher beobachtete „sekundäre Caryosom“ habe ich bei *Orcheobius herpobdellae* nicht beobachtet.

Wie erwähnt, zeigen die Merozoiten weder in physiologischer Kochsalzlösung noch in Eiweißlösung irgend welche Bewegung. Diese Unbeweglichkeit auf ungünstige Einwirkungen dieser Flüssigkeiten zurückzuführen, erscheint nicht angezeigt, da sich die reifen Sporozoiten, wie unten näher geschildert werden soll, in beiden längere Zeit lebhaft bewegen. Die eigenartige Lebensweise des Parasiten macht auch eine aktive Bewegung der Merozoiten überflüssig; die späteren Stadien finden sich nämlich in Lymphocyten, und man kann wohl annehmen, daß die Merozoiten, nachdem sie auf eine leider nicht ergründete Weise aus den Cytophoren herausgelaufen sind, von den reichlich im Hoden flottierenden Lymphocyten mit Hilfe von deren Pseudopodien gleich anderen Fremdkörpern aufgenommen werden, wobei sie selbst sich vollkommen passiv verhalten. In der Regel scheint diese Aufnahme erst stattzufinden, wenn die Merozoiten etwas herangewachsen sind; wenigstens fanden sich sehr häufig freie Merozoiten, die erheblich größer waren als die eben erst aus der Teilung hervorgegangenen. Es ist auch nicht ganz ausgeschlossen, daß manche Merozoiten überhaupt nicht von Lymphocyten aufgenommen werden, sondern frei im Hoden sich weiter entwickeln; doch kann ich hierüber keine bestimmten Aussagen machen. Sehr selten wurde in einer Lymphocyte ein einzelner Merozoit gesehen, fast stets eine ganze Anzahl. Ältere Stadien wurden sogar niemals einzeln in Lymphocyten liegend gefunden, so daß man annehmen kann, daß eine Lymphocyte, die von einem einzelnen Parasiten befallen wird, diesen zu vernichten vermag, während sie bei mehrfacher Infektion (Fig. 5, 6, 7, 36) hierzu nicht imstande ist. Übrigens werden auch die Cytophoren, wenn die reifen Sporozoiten sich von ihnen losgelöst haben, von den Lymphocyten aufgenommen, und es kommt auch vor, daß man in der gleichen Lymphocyte neben einem Cytophor eine Anzahl Orcheobien findet. Ein solcher Fall wurde in Fig. 6 abgebildet; hier ist das Cytophor (cy) bereits ziemlich stark durch die Einwirkung der Lymphocyte verändert.

¹⁾ Die Arbeit von TH. MONOFF (Compt. Rend. de l'Acad. des Sci. 1906), in welcher dieser die Zugehörigkeit von *Eucoccidium* zu den Coccidien bestreitet, kam mir leider erst während des Drucks meiner Arbeit zu Gesicht.

Die Lymphocyten enthalten stets eine Anzahl unregelmäßig angeordneter Vakuolen, und in solchen liegen auch die aufgenommenen Merozoiten. Letztere wachsen allmählich heran, wobei die ursprünglich sehr kleine Lymphocyte ziemlich stark gedehnt wird. Zuletzt bildet sie nur noch eine ganz dünne membranartige Hülle um die ausgewachsenen Parasiten. Ob ihnen das Plasma ihrer Wirtszelle in der ersten Zeit zur Nahrung dient, muß dahingestellt bleiben. Im wesentlichen können sie die zu ihrer erheblichen Vergrößerung erforderliche Nahrung sicherlich nicht aus den winzigen Lymphocyten, sondern nur aus der sie umgebenden Hodenflüssigkeit erhalten. *Orcheobius herpobdellae* erinnert dadurch an Gregarinen, die ja allgemein ihre Nahrung aus der Flüssigkeit der Körperhöhlen beziehen, in denen sie leben. Der Kern der Lymphocyten bleibt in der Regel sehr lange erhalten und ist meistens etwas vergrößert.

Die Makrogameten.

Nachdem die heranwachsenden Merozoiten von den Lymphocyten aufgenommen worden sind, erfahren sie in ihrem Innern beträchtliche Veränderungen, besonders im Kern: Die Wabenschicht, die dem Binnenkörper unmittelbar anliegt, war bisher (Fig. 32) von dem übrigen Protoplasma nicht zu unterscheiden. Allmählich jedoch werden die Waben dieser Schicht deutlich größer und auch dünnwandiger (Fig. 34); sie liefern den Hohlraum des allmählich bläschenförmig werdenden Kerns, der sich jetzt mit einer deutlichen Kernmembran scharf gegen das umgebende Protoplasma abgrenzt.

Etwas über die Hälfte der Orcheobien, jene nämlich, welche später zu Mikrogametocyten werden, bleiben bald im Wachstum zurück, während die übrigen, aus denen die Makrogameten hervorgehen, sich rasch weiter entwickeln (Fig. 6, 7, 34, 35). Diese vergrößern sich, wobei sie in der Längsrichtung stärker wachsen als im Querschnitt, und krümmen sich häufig ein. Der Kern vergrößert sich ebenfalls und nimmt immer deutlicher bläschenförmige Gestalt an. In dem Binnenkörper der jungen Makrogameten zeigen sich Vakuolen; man erkennt, daß er einen deutlich wabigen Bau hat (Fig. 34); die dünne chromatische Rindenschicht (s. o. S. 391) ist ringsum deutlich nachweisbar; die Chromatinkörner, welche dem Binnenkörper in beschränkter Zahl anlagen, zerfallen allmählich in eine ganze Anzahl zum Teil sehr feiner Körnchen, welche sich im ganzen Kern verteilen und sich besonders an der Oberfläche des Binnenkörpers und an der Kernmembran vorfinden (Fig. 35). Im

Plasma treten gewisse Einlagerungen auf, die weiter unten noch näher besprochen werden sollen.

Die ausgewachsenen Makrogameten (Fig. 37) haben nicht die gewöhnliche Form einer Coccidie, sondern sie sind ähnlich wie eine *Monocystis* gebant, an die sie ja auch, wie oben schon bemerkt wurde, durch ihre Ernährung erinnern; sie sind jedoch unbeweglich. Sie haben ausgestreckt eine Länge von etwa 180μ ; ihre größte Breite beträgt etwa 30μ . Nicht alle findet man in gestreckter Lage, wie in Fig. 8; viele sind mehr oder weniger gekrümmt (Fig. 10, 37). Schon BRASIL (1904 B) beschrieb übrigens ein Coccidium, *Angeiocystis audouinii*, dessen Länge (50μ) mehr als dreimal so groß ist als sein Durchmesser (15μ), das also seiner Gestalt nach an eine *Monocystis* erinnert.

Die Makrogameten von *Orcheobius* sind erfüllt mit ziemlich großen Körnchen, deren Durchmesser etwas über 1μ beträgt. Diese liegen dicht aneinander gedrängt in einer homogenen Plasmamasse, in der man keine Alveolen erkennen kann. Sie brechen das Licht ziemlich stark. Die lebenden Makrogameten erscheinen daher bei schwacher Vergrößerung im durchfallenden Lichte als langgestreckte, wurmförmige schwarze Körper; im auffallenden Lichte dagegen erscheinen sie weiß, und daher rührt die ganz oben (S. 382) erwähnte milchig weiße Färbung der betreffenden Partie der infizierten Wirtstiere.

Die Körnchen färben sich mit den meisten angewandten Farbstoffen nicht; in gefärbten, in Kanadabalsam eingeschlossenen Präparaten entziehen sie sich im allgemeinen durch ihre Aufhellung der Wahrnehmung. Die Präparate täuschen daher eine grobwabige Struktur vor; in Wirklichkeit sind jedoch die Wabenräume vollständig von den Körnchen angefüllt. Während die entsprechenden Körnchen anderer Coccidien, die von den meisten Forschern als „plastische Granula“ bezeichnet werden, sich nach LABBÉ (1896) mit Eosin, Aurantia und Pikrinsäure, nach SCHAUDINN (1900) mit Eosin, Aurantia und Thionin färben, bleiben die von *Orcheobius herpobdellae* bei Behandlung mit fast allen oben (S. 6 bis 10) erwähnten Farbstoffen ungefärbt. Sie nähern sich in diesem Verhalten den Körnchen von *Isospora lieberkühni*, die nach den Angaben von LAVERAN und MESNIL (1902 A) ebenfalls mit Osminsäure und auch mit Eosin sich nicht färben. Der einzige angewandte Farbstoff, den die Körnchen aufnehmen, ist das Bismarckbraun, durch welches sie eine gelbbraune Färbung annehmen. Sehr lehrreich sind daher Schnitte, die mit Boraxkarmin (zur Chromatinfärbung), mit

Blen de Lyon (zur Färbung des Plasmas und des Plastianteils des Binnenkörpers) und mit Bismarckbraun behandelt wurden.

Bei Einwirkung von Jod färben sich die Körnchen gelbbraun; wenn man außerdem Schwefelsäure einwirken läßt, nehmen sie eine dunkelbraunviolette Farbe an. Sie unterscheiden sich hierdurch ebenfalls von den Körnchen, die SCHAUDINN (1900) von *Eimeria* und *Adelæa* beschrieben hat, und die bei nachträglichem Zusatz von Schwefelsäure die gelbe Farbe behalten, die sie unter der Einwirkung der Jodlösung angenommen hatten. Dagegen stimmen sie ziemlich genau überein mit den Körnchen von *Klossia helicina*, welche nach KLOSS (1855) durch Jod gebräunt werden und, wenn man außerdem Schwefelsäure einwirken läßt, eine schwarze Färbung annehmen, welche beim Auswaschen mit Wasser in eine blaue bis violette Färbung übergeht. Ebenso verhalten sich die Körnchen des *Orcheobius* sehr ähnlich wie die der Gregarinen, welche von BÜTSCHLI (1871, 1885 und 1903) und MAUPAS (1886) untersucht wurden. Diese färben sich bei Behandlung mit Jod nach BÜTSCHLI braunrot bis braunviolett, nach MAUPAS gelbbraun; bei darauf folgendem Zusatz von Schwefelsäure quellen sie und werden nach BÜTSCHLI weinrot bis veilchenblau, nach MAUPAS violettlila. BÜTSCHLI schloß 1885 aus diesen Reaktionen auf eine Verwandtschaft des Stoffes, aus dem die Körner bestehen, mit dem Glycogen und nannte denselben Paraglycogen, MAUPAS (1886) dagegen stellte ihn mehr in die Nähe der Stärke und schlug den Namen Zooamylum vor; ihm schloß sich BÜTSCHLI 1903 an. Es dürfte wohl angebracht sein, obwohl weitere Reaktionen nicht angeführt wurden, auch die Körnchen des *Orcheobius* als Zooamylumkörner zu bezeichnen.

In neuerer Zeit haben sich BRAULT und LOEPER (1904) mit den entsprechenden Körnchen des Kaninchenccidiums, *Eimeria stiedae*, beschäftigt. Die Tatsache, daß die Körnchen sich bei Behandlung mit Jod braun färben, — weitere Reaktionen werden nicht angegeben — dient ihnen als sicherer Beweis dafür, daß sie aus Glycogen bestehen. Die Arbeiten von BÜTSCHLI und MAUPAS über die Gregarinen werden nicht erwähnt, obwohl BRAULT und LOEPER ihre beim Studium eines Coccidiums erworbene Meinung nicht nur auf verwandte Formen ausdehnen, sondern auf p. 726 erklären: „La description de la glycogénèse chez les coccidies peut servir de type pour les différentes espèces de protozoaires.“

Wie gesagt, entziehen sich die Zooamylumkörnchen von *Orcheobius* in Kanadabalsampräparaten, die nicht mit Bismarckbraun gefärbt sind, im allgemeinen der Wahrnehmung. Doch machen sie sich

mitunter indirekt dadurch bemerkbar, daß in ihrem Innern mit Gas erfüllte Spaltenräume auftreten, die dann natürlicherweise durch ihre optischen Eigenschaften das Studium der Kernverhältnisse in der lästigsten Weise beeinträchtigen können. Diese Spalten wurden häufiger in Totalpräparaten und dicken Schnitten (20μ und darüber), sehr selten in dünnen Schnitten (10μ und darunter), beobachtet. Ich vermag nicht zu entscheiden, ob diese Verschiedenheit auf Zufall beruht oder ob sie irgend welche bestimmten Ursachen hat. Welcher Natur diese Ursachen sein könnten, ist mir ebenfalls völlig unklar.

Zwischen diesen Zooamylumkörnern finden sich im Plasma der herangewachsenen Makrogameten kleinere Körnchen, die sich mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin tief rot färben. Sie sind wohl den von zahlreichen anderen Sporozoen bekannt gewordenen Körnchen zu vergleichen, welche SCHAUDINN (1900) als hämatoxylinophile Granula bezeichnet hat. Ganz ähnliche Körnchen finden sich übrigens auch bei anderen Protozoen und Protophyten und wurden von BÜTSCHLI (1890) als „rote Körnchen“, von MEYER (1904) als „Volutinkugeln“ bezeichnet.

Etwa in der Mitte des herangewachsenen Makrogameten liegt der ziemlich große, bläschenförmige Kern (Fig. 37n), der auch am lebenden *Orcheobius* meist als heller Fleck deutlich sichtbar ist (Fig. 8). Er nimmt fast die ganze Breite der Zelle ein und ist durch eine deutliche Kernmembran vom umgebenden Plasma abgegrenzt. Der im Zentrum des Kerns gelegene Binnenkörper hat sich wenig verändert; sein Durchmesser beträgt etwa 6μ ; die äußere chromatische Zone ist äußerst dünn, in seinem Innern befinden sich einige Vakuolen. Außerhalb des Binnenkörpers findet sich ein Liningerüst; in diesem sowohl, als auch unmittelbar dem Binnenkörper und der Kernmembran angelagert, beobachtet man eine große Zahl kleinerer und größerer, zum Teil ganz feiner staubförmiger Chromatinkörnchen.

Mikrogametocyten.

Ähnlich wie die Makrogameten entwickeln sich auch die Mikrogametocyten (Fig. 6—8; 34—37); doch finden sich eine Anzahl von Abweichungen. Es wurde schon erwähnt, daß sie bedeutend langsamer wachsen und kleiner bleiben als die Makrogameten.

Im Kern treten schon sehr früh, nachdem er bei den Mikrogametocyten ähnlich wie bei den Makrogameten bläschenförmig geworden ist und eine Kernmembran erhalten hat, nicht unerhebliche

Unterschiede auf. Der Binnenkörper der Mikrogametocyten ist schon auf frühen Stadien nicht nur absolut, sondern auch im Verhältnis zur Größe des ganzen Kerns kleiner als der der Makrogameten (Fig. 34). Die chromatische Rindenschicht, welche bei allen älteren, aber noch undifferenzierten Merozoiten sichtbar ist, verschwindet bei den jungen Mikrogametocyten sehr bald wieder (Fig. 35). Die Bildung von winzigen Vakuolen im Binnenkörper ist nur schwer, oft gar nicht zu erkennen. Die großen Chromatinkörnchen dagegen bleiben noch längere Zeit erhalten, ohne wie bei den Makrogameten zu zerfallen; sie verteilen sich im ganzen Kern.

In den heranwachsenden Mikrogametocyten treten auch Zooamylumkörner und hämatoxylinophile Granula auf, und zwar stimmen letztere mit denen der Makrogameten völlig überein; erstere dagegen sind bedeutend kleiner — ihr Durchmesser ist kleiner als $1\ \mu$ — und auch weniger dicht zusammengedrängt als die Zooamylumkörner der Makrogameten.

Wenn die Mikrogametocyten ausgewachsen sind, sind sie etwa $50\ \mu$ lang und an der breitesten Stelle $12\ \mu$ breit; sie sind also ganz bedeutend kleiner als die Makrogameten; außerdem ist ihre Gestalt gedrungener.

Im Kern sind die groben Chromatinkörner, wenn auch später als bei den Makrogameten, doch schließlich in eine große Anzahl von feinen Körnchen zerfallen, die fast den ganzen Kern der Mikrogametocyte anfüllen. Vorübergehend ordnen sie sich sternförmig an (Fig. 37). Der Binnenkörper ist ganz von den dichten Chromatinmassen verdeckt.

Bildung der Mikrogameten.

Mikrogametocyten und Makrogameten bleiben längere Zeit auf dem geschilderten Stadium stehen. Dann beginnen zunächst die Mikrogametocyten sich zusammenzuziehen, indem augenscheinlich von beiden Enden her Plasma nach der Mitte zu fließt und sich dort an einer Seite des Kerns ansammelt. An der anderen Seite bleibt der Kern dicht unter der Oberfläche liegen (Fig. 9). Dieser Prozeß setzt sich so lange fort, bis die Zelle Kugelform angenommen hat.

Schon vor Beginn der Abrundung haben die Chromatinkörnchen, die vorher fast den ganzen Kern erfüllten, sich etwas mehr in dessen Mitte zurückgezogen. Sie liegen dort dicht zusammengedrängt und durch ein schwer sichtbares Liningerüst miteinander verbunden. Der Binnenkörper wird vorübergehend wieder sichtbar

(Fig. 38 bk); dann geht er auf eine nicht näher ermittelte Art zugrunde.

Jetzt ist der Kern zur Teilung bereit: Er streckt sich in die Länge und legt sich dabei platt der Oberfläche an; die Kernmembran wird hierbei rückgebildet. Die Chromatinkörnchen, welche jetzt fast den ganzen Raum des Kerns einnehmen, bilden zusammen eine der Zelloberfläche dicht anliegende, flache, langgestreckte Platte. In dieser findet eine Umformung des Chromatins statt, indem es zunächst parallel angeordnete klumpige Fäden bildet (Fig. 39). Darauf schnürt die Chromatinplatte sich hantelförmig ein, wobei das gesamte Chromatin zu zwei miteinander verbundenen, wabig gebauten Chromatinklumpen verschmilzt (Fig. 40). Dann trennen beide Teile des hantelförmigen Kerns sich völlig voneinander. Es findet also eine höchst einfache direkte Kernteilung statt. Beide Teilkerne rücken ein Stück auseinander, dann erfolgt, ebenfalls in direkter Weise, eine zweite Kernteilung. Man findet Kernteilungsstadien in den Mikrogametocyten äußerst selten, was darauf schließen läßt, daß die Teilungen sehr rasch vor sich gehen. Die in der geschilderten Weise entstandenen vier Kerne bleiben dicht unter der Oberfläche der Mikrogametocyte liegen. Dann wölben sie sich etwas über die Oberfläche der Mikrogametocyte vor (Fig. 12), und es lösen sich vier Mikrogameten von dieser los. Die Art und Weise ihrer Bildung habe ich nicht genauer studiert; ich kann nur mitteilen (was nach den Untersuchungen an anderen Coccidien fast selbstverständlich erscheint), daß zur Bildung jedes der vier Mikrogameten einer der vier Kerne und sehr wenig Protoplasma verbraucht wird. Der relativ sehr große Rest der ihrer Kerne beraubten Mikrogametocyte ist noch längere Zeit hindurch in der Nähe der Makrogameten, resp. der in Sporulation befindlichen Oocysten nachweisbar, dann zerfällt er allmählich.

Die Mikrogameten (Fig. 13) habe ich ziemlich häufig, sowohl im Leben als auch auf Schnitten, beobachten können. Sie bestehen fast nur aus Chromatin und sind im Leben ziemlich stark lichtbrechend. Ihre Gestalt ist spindelförmig, an beiden Enden zugespitzt; doch sind sie nicht völlig drehrund, sondern an einer Seite etwas abgeplattet. Ihre Länge beträgt etwa 4μ , ihre größte Breite 2μ . Vorn tragen sie zwei schräg nach hinten divergierende Geißeln, die dicht hinter der Spitze inserieren, welche ich mit LÉGER (1898 B) als Rostrium bezeichnen möchte; sie stimmen also u. a. mit den Mikrogameten überein, die v. WASIELEWSKY (1898) von *Eimeria stiedae*, LÉGER (1898 B) von *Baroussia caudata* und LAVERAN und MESNIL

(1902 A) von *Isospora lieberkühni* beschrieben haben. Bei den genannten Formen entspringen die Geißeln an der Spitze und sind vom Insertionspunkt an frei. Dagegen ist bei *Cyclospora caryolytica* nach SCHAUDINN (1902) die eine von beiden bis etwa zur Mitte des Mikrogametenkörpers mit diesem verwachsen. Bei einer Anzahl anderer Coccidien wird die Geißel erst am Hinterende frei, oder entspringt dort. Bei den Mikrogameten von *Eucoccidium eberthi* z. B. fehlen die Geißeln ganz (SIEDLECKI 1898).

Ich habe leider niemals eine Bewegung der Mikrogameten von *Orcheobius herpobdellae* beobachten können, weder in Eiweißlösung noch in physiologischer Kochsalzlösung, doch muß wohl angenommen werden, daß ihnen eine vielleicht nur kurze Zeit andauernde Bewegungsfähigkeit zukommt.

In der Art der Befruchtung schließt sich *Orcheobius herpobdellae* an *Adelea* an (SCHAUDINN und SIEDLECKI 1897, SIEDLECKI 1899 A, PÉREZ 1899 und 1903, LÉGER u. DUBOSCQ 1902 A p. 436—437 und 1903 A und LÉGER 1904 B), sowie an *Klossia helicina* (LAVERAN 1898) und *Legerella* (BONNET-EYMARD 1900 und CUÉNOT 1902), bei denen eine Aneinanderlagerung der Makrogameten und der Mikrogametocyten stattfindet und letztere vier Mikrogameten hervorbringen, während bei *Eucoccidium* und bei den Coccidien mit oktozoischer und tetrazoischer Oocyste zahlreiche Mikrogameten gebildet werden. Von *Adelea ovata* und *Legerella* unterscheidet sich *Orcheobius* dadurch, das Makrogameten und Mikrogametocyten bei ihm von völlig gleich gebauten Mutterzellen herkommen, während bei *Adelea* und *Legerella* (ebenso übrigens nach SCHAUDINN (1902) bei *Cyclospora caryolytica*, bei der zahlreiche Mikrogameten gebildet werden), die Mikrogametocyten und die Makrogameten aus verschiedenartigen Mutterzellen entstehen. Dagegen nähert sich *Orcheobius herpobdellae* in dieser Hinsicht der *Klossia helicina*, bei der nach LAVERAN (1898) die jungen Mikrogametocyten und Makrogameten sehr schwer zu unterscheiden sein sollen; welcher Art die Unterschiede sind, gibt LAVERAN übrigens nicht an, so daß PÉREZ (1903) zu der Ansicht gelangte, LAVERAN habe überhaupt einen Dimorphismus der Schizonten nicht beobachtet.

Ein anderer Unterschied zwischen *Adelea* einerseits, *Klossia* und *Orcheobius* andererseits ist es, daß bei der ersteren ein Wachstum der zu Mikrogametocyten sich entwickelnden männlichen Merozoiten der letzten Generation gar nicht (bei *Adelea ovata* nach SIEDLECKI 1899) oder nur in sehr geringem Maße (bei *Adelea mesnili* nach PÉREZ 1903 und bei *Adelea transita* nach LÉGER 1904 B) stattfindet, während bei *Klossia helicina* und *Orcheobius herpobdellae* ein

keineswegs nnerhebliches Wachstum erfolgt. Zwar erreichen die Mikrogametocyten dieser Formen keineswegs die Größe der Makrogameten, wie es bei denjenigen Coccidien der Fall ist, bei welchen zahlreiche Mikrogameten an jeder Mikrogametocyte ausgebildet werden; immerhin kann man in dieser Erscheinung wohl eine gewisse Annäherung an diese letzteren Formen (*Eimeria* u. a.) erkennen.

Bei dieser Gelegenheit sei es gestattet, einen Vergleich der Mikrogametocyte von *Orcheobius herpobdellae* mit entsprechenden Stadien anderer Coccidien zu versuchen. Zweifellos ist zunächst, daß sie der Mikrogametocyte von *Adelea* homolog ist. Bei *Adelea ovata* nämlich, wo nach SIEDLECKI (1899 A) schon während der Schizogonie ein sexueller Unterschied besteht, lagern sich die männlichen Merozoiten der letzten Generation (SIEDLECKI gebraucht diese Bezeichnung nicht) den Makrogameten an, werden zu Mikrogametocyten und bringen je vier Mikrogameten hervor. Man könnte nun der Ansicht sein, daß die Bildung der Mikrogameten, welche bei vielen Coccidien, z. B. *Eimeria*, direkt an der Oberfläche einer „Coccidie adulte“ (s. SIEDLECKI 1899 A) erfolgt, bei *Adelea* in zwei Phasen zerlegt ist, daß der Mikrogametocyte von *Eimeria* die Mutterzelle der Mikrogametocyten von *Adelea* entspricht und daß sich bei *Eimeria* nichts den Mikrogametocyten von *Adelea* vergleichbares findet. Es scheint, daß dies die Ansicht von SIEDLECKI (1899 A)¹⁾ und LAVERAN (1898)²⁾ ist. Da aber die Mutterzelle der Mikrogametocyten von *Orcheobius* und anscheinend auch von *Klossia helicina* ein gewöhnlicher Schizont ist, so führt diese Ansicht zu der höchst unwahrscheinlichen Folgerung, daß die Mikrogametocyte von *Eimeria* dem letzten Schizonten von *Orcheobius* homolog ist, der sich durch nichts von den übrigen Schizonten unterscheidet. Es dürfte daher wohl richtig sein, die Mikrogametocyten von *Adelea*, *Orcheobius* und ähnlichen Formen mit den Mikrogametocyten von *Eimeria*, *Cyclospora* usw. zu vergleichen. Die Bildung der Mikrogametocyten von *Adelea* ist demnach als letzte, sehr stark durch sexuelle Verhältnisse modifizierte Schizogonie aufzufassen. Ob aus der Mikrogametocyte vier oder mehr Mikrogameten sich entwickeln, halte ich für nebensächlich. Es ist dies abhängig von der Größe, welche die Mikro-

¹⁾ p. 182: „Chez les genres *Coccidium* et *Klossia* les microgamètes se forment directement à la surface d'une coccidie adulte, en un temps. Ici la formation a lieu en deux temps.“ (Unter *Coccidium* ist *Eimeria* und unter *Klossia* ist *Eucoccidium* zu verstehen; vgl. LÖCHER 1903).

²⁾ p. 1084: „Les microgamètes ne se forment pas directement; il y a d'abord production de cellules mères de microgamètes ou microgamétocytes.“

gametocyten erreichen, bzw. von der hiermit in Beziehung stehenden Menge der Kernsubstanz. Werden sie ungefähr so groß wie die Makrogameten, so entwickeln sie viele Mikrogameten; wachsen sie dagegen wenig oder gar nicht, so ist nach einmal wiederholter Zellteilung des Kerns bereits der Kernteilungsprozeß beendet und infolgedessen entstehen nur vier Mikrogameten.

Befruchtungsvorgänge.

Schon während in den Mikrogametocyten die Kerteilungen vor sich gehen, beginnen auch die Makrogameten, denen sie anliegen, sich abzurunden. Doch nehmen sie nicht die Form einer Kugel an, sondern kontrahieren sich nicht weiter, als bis sie ungefähr die Form eines Rotationsellipsoids angenommen haben, dessen große Achse etwa $60\ \mu$ und dessen kleine Achse etwa $40\ \mu$ lang ist. Sie nehmen bei der Kontraktion etwas an Volumen ab. Die oben erwähnte, von den Lymphocyten herstammende Hülle wird nämlich von dem kontrahierten Makrogameten, dessen frühere Form sie bewahrt, nur zum Teil ausgefüllt, ohne daß jedoch der mittlere Teil der Hülle, in dem der kontrahierte Makrogamete liegt, besonders stark aufgebauscht wird. Ich habe diesen Kontraktionsprozeß gelegentlich am lebenden Objekt beobachten können; wahrscheinlich kommt er durch Austritt von Flüssigkeit aus dem Parasiten ins umgebende Medium zustande; eine andere Erklärung kann ich wenigstens nicht finden. Eine Verkleinerung des Volumens, Kondensation, hat übrigens auch BRASILE an einem Sporozoon beobachtet, und zwar (1904A) an *Joyeuxella toxoides*, einem Sporozoon incertae sedis aus dem Darm von *Lagis koreni*.

Der Kern der kontrahierten Makrogameten liegt an einem Pol des Rotationsellipsoids dicht unter der Oberfläche. Man kann am lebenden Objekt in dem Zellkörper, der durch die eingelagerten, oben beschriebenen Granulationen dunkel erscheint, deutlich den bläschenförmigen Kern und den in ihm liegenden, ziemlich stark lichtbrechenden Binnenkörper erkennen.

Gleichzeitig mit der Loslösung der Mikrogameten von der Mikrogametocyte gehen im Makrogametenkern folgende Veränderungen vor sich: Während zuletzt das Chromatin im Kern außerhalb des Binnenkörpers in zahlreichen, stabförmigen Körnchen vorhanden war, sammelt es sich jetzt in größeren, anscheinend hohlen Körnern oder Tropfen in unmittelbarer Nähe des Binnenkörpers (Fig. I). Allmählich gibt auch dieser sein Chromatin ab, welches ebenfalls

zur Bildung der größeren Tröpfchen beiträgt. Ich hatte, obwohl es kaum möglich ist, sich hierüber ein sicheres Urteil zu bilden, den Eindruck, als ob hierbei eine Chromatinvermehrung stattfindet. Wenn dieser Prozeß vollendet ist, ist die Chromatinrinde vollständig von dem Binnenkörper verschwunden; dieser besteht dann nur noch aus Plastin, enthält große Vakuolen und ist häufig in zwei oder drei Teile zerfallen, die ihrerseits wieder Kugelform annehmen. Er entzieht sich häufig der Wahrnehmung, da die Chromatinkörnchen ihn dicht umgeben.

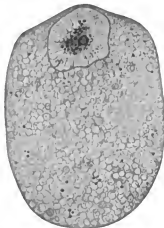


Fig. I.

Makrogamet kurz vor der Befruchtung.



Fig. II.

Makrogamet kurz nach der Befruchtung.
o der eingedrungene Mikrogamet.

Auf diesem Stadium erfolgt anscheinend die Befruchtung, die ich leider am lebenden Objekt niemals verfolgen konnte. Doch habe ich auf gefärbten Präparaten wiederholt den eingedrungenen Mikrogameten als kompakten Chromatinklumpen innerhalb des Makrogametenkerns beobachten können (Fig. II). In einem anderen Präparat sah ich, daß das männliche Chromatin aufgelockert und dem weiblichen Chromatin genähert war, und zwar lockert sich das männliche Chromatin zuerst an derjenigen Seite auf, die dem weiblichen Chromatinhaufen am nächsten liegt. Es ist anzunehmen, daß dann beide Chromatinhaufen miteinander zu einem einzigen Klumpen verschmelzen.

Diese eben befruchteten Makrogameten waren stets bereits von einer, wahrscheinlich unmittelbar nach dem Eindringen des Mikrogameten gebildeten Cystenmembran umgeben und dadurch zur

Oocyste geworden. Von der Membran hat sich das Plasma dicht an dem Pol, an welchem der Kern liegt, etwas zurückgezogen, weshalb sie vor allem hier sichtbar wird. Genau am Pol jedoch zieht sich das Plasma zunächst nicht zurück; dadurch entsteht hier eine fast nur vom Kern gebildete Vorwölbung (Fig. 14 bh), die wie ein Befruchtungshügel aussieht und die ich auch der Kürze halber mit diesem Namen bezeichnen will, obwohl ich nicht mit Bestimmtheit entscheiden kann, ob sie wirklich als solcher dient oder ob sie nicht erst nach der Befruchtung entsteht.

Sehr große Schwierigkeiten machten die außerordentlich zahlreichen und höchst verschiedenartigen Stadien, die der Kern nach der Befruchtung bis zur Vollendung seiner ersten Zweiteilung durchläuft. Ich habe schon oben bemerkt, daß ich nur wenige Veränderungen am lebenden Objekt direkt verfolgen konnte und daher größtenteils auf Kombinationen angewiesen bin. Außerordentlich schwierig ist es leider, die in Rede stehenden Kernveränderungen am Lebenden zu studieren, da die Beobachtung aller feineren Einzelheiten durch die groben, dem Plasma eingelagerten, dicht gedrängten Zooamylinmörner verhindert wird. Solange der Befruchtungshügel vorhanden ist, liegt der Kern zum Teil dicht unter dessen Oberfläche (Fig. 14); man kann dann häufig den Binnenkörper noch erkennen. Sehr bald aber, nachdem die Cystenmembran völlig geschlossen ist, zieht der Befruchtungshügel sich von dieser zurück, und der Kern ist fast rundum von den stark lichtbrechenden Zooamylinmörnern umgeben. Die Rückbildung des Befruchtungshügels habe ich am lebenden Objekt verfolgen können. Es trennt sich dabei etwas Protoplasma von dem übrigen los und bleibt an der Cystenmembran liegen. Eine Zeitlang ist es noch durch einen Plasmafaden mit dem übrigen Plasma verbunden; bald zerreißt jedoch dieser Faden, worauf das kleine Plasmaklumpchen zerfällt und sich in der Cystenflüssigkeit auflöst. Ganz Ähnliches hat PÉREZ (1903) bei *Adelea mesnili* gefunden.

Außerdem konnte ich noch eine Veränderung am lebenden Objekt beobachten. Ich konnte (Fig. 15) sehen, daß ein lauggestreckter, spindelförmiger Kern sich gegen einen Pol der Oocyste zusammenzog, sich dort zunächst abrundete und schließlich dem Pol flach anlagerte; eine Befruchtung erfolgte während dieser Vorgänge nicht. Ich werde auf diese Beobachtung noch zurückkommen und will vorerst nur betonen, daß sie beweist, daß nach der Befruchtung, wie bei allen genauer untersuchten Coccidien, der Kern die Form einer

Spindel annimmt, welche jedoch keine Teilungsspindel ist, sondern sich vor der ersten Kernteilung wieder zurückbildet.

Wie gesagt, war ich zur Erschließung der Reihenfolge, in der die einzelnen in gefärbten Präparaten gefundenen Kernstadien aufeinander folgen, größtenteils auf Kombinationen angewiesen. Ich erachte es in hohem Maße wahrscheinlich, daß die Vorgänge in folgender Weise verlaufen:

Das aufgelockerte männliche Chromatin vereinigt sich mit dem weiblichen Chromatin zu einem ziemlich dichten wabigen Chromatingerüst, das die Reste des Binnenkörpers umgibt, so daß letztere sich der Wahrnehmung völlig entziehen.

Dann beginnt der Kern (Fig. III) sich in die Länge zu strecken, bis er die Gestalt einer die ganze Oocyte durchziehenden Spindel angenommen hat; gleichzeitig entstehen chromatische Fäden, welche, von dem wabigen Chromatingerüst ausgehend, das am Befruchtungspol liegen bleibt, sich durch den Hohlraum des Kerns erstrecken, indem sie ihn entweder in schräger Richtung oder in seiner ganzen Längsrichtung durchziehen und sich mit ihrem Ende an die Kernmembran ansetzen. Am auffälligsten sind die in der Längsrichtung des Kerns verlaufenden Fäden; meist sind es etwa drei, welche ungefähr in der Achse des Kernes dicht nebeneinander herziehen und durch meist schräg verlaufende Verbindungsfäden, die ebenfalls chromatischer Natur sind, miteinander anastomosieren.



Fig. III.
Entstehung der Befruchtungsspindel
in der Oocyte.

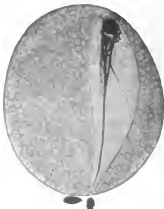


Fig. IV.
Oocyte mit Befruchtungsspindel.

Ich habe die zuletzt beschriebenen und in Fig. IV u. 41 dargestellten Kernstadien sehr häufig gefunden und schließe daraus, daß der Kern lange darauf verharrt. Ich muß diese merkwürdige Kernform natürlicherweise mit den Befruchtungsspindeln der übrigen genauer untersuchten Coccidien vergleichen, obwohl sie sich von diesen erheblich unterscheidet. Daß ein großer Teil des Chromatins an einem Pol der Spindel angesammelt bleibt, ist bisher bei keinem Coccidium beobachtet worden. Doch ist eine die Spindel von einem bis zum anderen Pol durchziehende, aus Chromatinfäden bestehende Achse, welche in der Mitte „un spirème de chromatine assez condensée“ trägt, durch SIEDLECKI (1898) von *Eucoccidium octopianum* bekannt geworden. Dagegen ist kaum ein Vergleich möglich zwischen der Befruchtungsspindel des *Orcheobius herpobdellae* und der der *Eimeria schubergi*, in welcher letzterer das Chromatin so außerordentlich regelmäßig im ganzen Kern verteilt ist. Zwischen den Befruchtungsspindeln von *Eimeria schubergi* und *Eucoccidium eberthi* steht übrigens in der Mitte die von *Adelea mesnili* (nach PÉREZ 1903), in welcher das Chromatin, aus einzelnen Fasern bestehend, auch die Achse der Zelle einnimmt, wie bei *Eucoccidium eberthi*, aber in einer Spindel von etwas größerem Querschnitt angeordnet ist und, wie bei *Eimeria schubergi*, den Kern ganz ausfüllt.

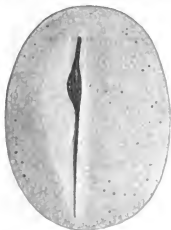


Fig. V.
Oocyste mit Befruchtungsspindel;
etwas späteres Stadium als Fig. IV.

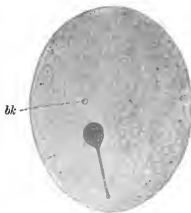


Fig. VI.
Oocyste mit in Rückbildung begriffener
Befruchtungsspindel. bk Binnenkörper.

Die Rückbildung dieser Spindel scheint in höchst eigenartiger Weise vor sich zu gehen. Die axial verlaufenden Fäden verkürzen

und verdicken sich, ihr Ende bleibt jedoch an dem dem Befruchtungspol entgegengesetzten Ende der Spindel liegen. Die Fäden reißen aber nicht etwa durch, sondern das Chromatingerüst, von dem sie ausstrahlen, rückt im Zusammenhang mit ihrer Verkürzung von dem Befruchtungspol weg und mehr in die Mitte des Kernes. Hierbei werden die Reste des Binnenkörpers, die bisher von dem Chromatin umgeben waren, als kleine, mitunter Vakuolen enthaltende und mit Chromatinfarbstoffen durchaus unfärbbare Kügelchen frei (Fig. VI, VII, 43, 44). Das Chromatingerüst zieht die schräg durch den Kern verlaufenden Chromatinfäden ein und nimmt allmählich eine deutlich grobwabige Struktur an. Aus den axialen Fäden ist ein Fortsatz des nunmehr vorhandenen grobwabigen Chromatinklumpens entstanden; dieser Fortsatz nimmt ebenfalls einen deutlich wabigen Bau an, und zwar besteht er aus einer einzigen Wabenreihe (Fig. VI, 43). Das Chromatin hat jetzt die Form einer Keule. Allmählich verkürzt sich der Kern, indem er sich gegen den Befruchtungspol zusammenzieht, während gleichzeitig der Fortsatz der Chromatinkeule eingezogen wird (Fig. VII). Die Kernmembran bildet sich während dieser letzten Vorgänge zurück (Fig. VIII).

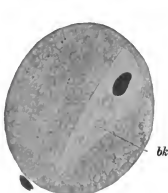


Fig. VII.
Die Rückbildung der Befruchtungspindel schreitet weiter fort.
bk Binnenkörper.



Fig. VIII.
Oocyte nach Rückbildung der Befruchtungspindel.

Die Reste des Binnenkörpers, welche bis jetzt sichtbar waren, verschwinden; es ist nicht zu entscheiden, ob sie im Kernsaft sich auflösen oder, nachdem der Kern membranlos geworden ist, vom Protoplasma aufgenommen werden. Daß der Binnenkörper (oder

Teile desselben) vor oder nach der Befruchtung zugrunde geht, ist von verschiedenen Coccidien nachgewiesen worden. Bei *Eucoccidium eberthi* gehen (nach LABRÉ 1896) Teile des Binnenkörpers innerhalb des Kernes zugrunde; dagegen wird er nach SIEDLECKI (1898) bei diesem Coccidium aus dem Kern ausgestoßen und im Plasma aufgelöst. Bei *Eimeria schubergi* (SCHAUDINN 1900) zerfällt er vor der Befruchtung, die Zerfallsprodukte werden ausgestoßen und sollen zur Anlockung der Mikrogameten dienen. Es würde zu weit führen, das Schicksal des Binnenkörpers bei allen näher bekannten Coccidien hier zu besprechen. Es sei nur erwähnt, daß auch bei einer Gregarine, bei *Schaudinella henleae*, nach den interessanten Untersuchungen NUSSBAUM'S (1903) der Binnenkörper bei der Befruchtung zugrunde geht. Im höchsten Grade merkwürdig und von den genannten Coccidien abweichend ist es jedoch, daß bei dieser Form das weibliche Chromatin in einem Klumpen aus dem Kern austritt, um sich außerhalb des Kernbläschens mit dem Chromatin des eingedrungenen Mikrogameten zu vereinigen, während der in dem Kernbläschen zurückgebliebene Binnenkörper, der ähnlich wie bei *Orcheobius herpobdellae* vor der Befruchtung sein ganzes Chromatin abgegeben hat, degeneriert, und zwar mitsamt dem ganzen Kernbläschen.

Daß in den in Fig. VI, VII, 43, 44 dargestellten Stadien der Binnenkörper sich leicht beobachten läßt, während er in Fig. III—V, 41, 42 sich der Wahrnehmung entzieht, veranlaßte mich zuerst, im letzteren Falle ihn für bereits aufgelöst zu halten und demgemäß die gesamten Stadien der Befruchtungsspindel in umgekehrter Reihenfolge anzuordnen, so daß die Figuren so aufeinander folgen würden: Fig. I; II; VII, 44; VI, 43; V, 42; IV, 41. Danach würde nach der Befruchtung das männliche und weibliche Chromatin zu einem wabig gebanten kompakten Klumpen verschmelzen (Fig. VII, 44); während der Kern sich in die Länge streckt, würde der Chromatinklumpen einen Fortsatz aussenden (Fig. VI, 43), dann würde das ganze Chromatin sich anlockern, weitere Fortsätze aussenden und so das Stadium der sogenannten Befruchtungsspindel erreichen. Später würde der Kern unter Auflösung der Membran sich einfach kontrahieren.

Ich muß auch jetzt noch die Möglichkeit offen lassen, daß diese frühere Meinung die richtige ist, doch hat die oben gegebene Darstellung mehr Wahrscheinlichkeit für sich. Es folgt nämlich bei allen näher bekannt gewordenen Coccidien die Befruchtungsspindel, in der das Chromatin aufgelockert ist, unmittelbar der Befruchtung, und es ist daher unwahrscheinlich, daß bei *Orcheobius* jenes merk-

würdige Kenlenstadium zwischen Befruchtung und Befruchtungsspindel sich einschieben soll.

Sporogonie.

Nach völliger Rückbildung der Befruchtungsspindel besteht der am Befruchtungspol liegende Kern aus einem ziemlich dichten alveolären Chromatinhaufen, der von einem hellen Hof umgeben ist. Eine Kernmembran ist nicht vorhanden (Fig. VIII).

Es erfolgt nun sehr bald die die Sporogonie einleitende erste Kernteilung, deren Verlauf äußerst beachtenswert ist. Zunächst legt sich der Kern, wie auch am lebenden Objekt (s. o. und Fig. 15) beobachtet werden konnte, der Zelloberfläche am Befruchtungspol ganz dicht und ziemlich flach an. Dann bilden sich Spindelfasern aus, der alveoläre Chromatinklumpen zerfällt in eine große Zahl kleiner Chromatintröpfchen, die auf den Spindelfasern anscheinend entlanggleiten; schließlich bilden sich, was bisher noch an keinem Coccidium einwandfrei beobachtet werden konnte, regelrechte Chromosomen aus, die jedenfalls aus den Chromatintröpfchen durch Aneinanderreihung entstehen.



Fig. IX.

Oocyste, deren Kern beginnt, sich zu teilen. ♂ Reste von Mikrogameten.

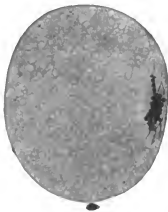


Fig. X.

Etwas späteres Stadium als Fig. IX.

Ihre Zahl ist nicht völlig konstant, doch schwankt sie im allgemeinen nur zwischen 10 und 12. Bei günstiger Färbung mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin erkennt man (Fig. XI–XIII), daß die Chromosomen wabig gebaut sind, und zwar bestehen sie aus einer Reihe von Waben; ihre Struktur stimmt demnach in merkwürdiger Weise

mit der Struktur der Bakterien überein, wie sie BÜTSCHLI (1890) beschrieben hat. Der Kern streckt sich dann spindelförmig in die Länge, und zwar ist die so entstandene Spindel eine Teilungsspindel, wie sich gleich zeigen wird. Sie ist von der oben beschriebenen Befruchtungsspindel leicht zu unterscheiden einerseits durch den Mangel einer erkennbaren Kernmembran, andererseits durch ihre Lage in der Oocyste. Während nämlich die Befruchtungsspindel den ganzen Zellkörper ungefähr in der Richtung von Pol zu Pol durchsetzt, bleibt die Teilungsspindel der Zelloberfläche ziemlich dicht angelagert und erreicht auch keineswegs die Länge der ersteren, sondern bleibt ziemlich kurz (Fig. IX—XIV, 45, 46).

Die Chromosomen, die bisher im Centrum des Kernes lagen, rücken nun ein klein wenig gegen die Pole der Spindel auseinander, und es werden Spindelfasern sichtbar. Eine Längsspaltung der Chromosomen erfolgt während der ganzen Teilung nicht, auch rücken die Chromosomen nicht alle bis in die unmittelbare Nähe eines der beiden Pole, sondern verteilen sich auf der ganzen Spindellänge, wobei je ein Ende von den Spindelfasern abgewandt ist (Fig. XI, XII).



Fig. XI.

Erste Kernteilung in der Sporocyste.
Deutliche Chromosomen sind vorhanden.



Fig. XII.

Wie Fig. XI.

Dann erfolgt etwas höchst Eigenartiges: Die Chromosomen nämlich legen sich allmählich den Spindelfasern der Länge nach an und zerfallen während dieses Vorganges in eine Anzahl kleiner Chromatintropfen, welche auf den Spindelfasern hinwandern. Man kann mitunter Chromosomen sehen, deren ursprünglich den Spindelfasern genähertes Ende bereits in einzelne Tropfen aufgelöst ist, während sie mit ihrem anderen Ende den Spindelfasern noch nicht einmal

völlig angelagert sind. Man glaubt dann, ganz kurze, mit einem Ende den Spindelfasern ansitzende Chromosomen vor sich zu haben. Schließlich verteilt sich das Chromatin der Chromosomen ganz auf den Spindelfasern. Es scheint, daß die einzelnen Tröpfchen den Alveolen der Chromosomen entsprechen; man sieht nämlich manchmal (vgl. Fig. XIII, XIV, 45) zwei bis drei Chromatintröpfchen, welche noch aneinander hängen und dann als ein nur noch aus zwei bis



Fig. XIII.

Oocyste; späteres Stadium der ersten Kernteilung.



Fig. XIV.

Wie Fig. XIII.

drei Alveolen bestehender Chromosomenrest erscheinen. Die Spindelfasern selbst, die vorher bei Behandlung mit Kernfarbstoffen ungefärbt blieben, färben sich auf diesen späteren Stadien der Teilung ziemlich stark sowohl mit Boraxkarmin als auch mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin; es scheint demnach, daß das Chromatin sich noch feiner als in Gestalt der deutlich sichtbaren Tröpfchen auf ihnen verteilt. Allmählich gleitet nun das Chromatin auf den Spindelfasern gegen beide Pole, und der Kern wird in der Mitte anfärbbar (Fig. 46); an beiden Enden des Kernes dagegen sind die Spindelfasern stark mit Chromatin beladen, und sie erwecken mitunter geradezu den Eindruck, als lägen dort zwei Bündel von Chromosomen, die an den Polen zusammenhängen. Es erfolgt dann eine völlige Trennung der beiden Tochterkerne, welche die weiter unten zu beschreibende Gestalt der ruhenden Kerne annehmen.

Da die Kernteilungen bei Coccidien meist viel einfacher verlaufen, als ich hier geschildert habe, und da der Verlauf der späteren Kernteilungen in der Oocyste von *Orcheobius herpobdellae* ein wesentlich einfacherer ist, so hielt ich anfangs die zuletzt beschriebenen,

in Fig. IX—XIV, 45 abgebildeten Kernformen für Stadien der Befruchtungsspindel. Aber auch in dieser sind ja regelrechte Chromosomen bisher niemals beobachtet worden. — Nun wurde schon oben erwähnt, daß die Spindeln, welche Spindelfasern und Chromosomen enthalten, stets erheblich kürzer sind als die ausgebildeten Befruchtungsspindeln und sich außerdem der Oberfläche der Zelle dicht anschmiegen. Es müßten also diese Stadien entweder bei der Entstehung oder bei der Rückbildung der Befruchtungsspindel durchlaufen werden. Ersteres erscheint mir völlig ausgeschlossen, da die oben als Teilungsspindel beschriebene Spindel keine sichtbare Kernmembran besitzt, während eine solche bei der ausgebildeten Befruchtungsspindel noch deutlich erkennbar ist. Die Rückbildung der Befruchtungsspindel dagegen konnte ich am lebenden Objekt beobachten, wobei sich feststellen ließ, daß sie sich einfach gegen den Pol zusammenzieht, ohne sich irgendwie zu drehen. Da die Achse der Teilungsspindel eine ganz andere Richtung hat (s. o.), so können beide nicht unmittelbar zusammengehören.

Nach Beendigung der ersten Kernteilung liegen die beiden Teilkerne etwa um einen drittel Umfang der Oocyste voneinander entfernt. Die Spindelfasern sind völlig verschwunden und das Chromatin ordnet sich (vgl. Fig. 47) in jedem Kern in einer aus feinen Kügelchen zusammengesetzten Platte an, die dicht unter der Oberfläche liegt. In einem in radialer Richtung durch die Oocyste geführten Schnitt erscheint daher solch ein ruhender Kern als ein ziemlich schmaler, der Oberfläche paralleler, stark tingierter Streifen. Ganz ähnlich sind auch die ruhenden Kerne gebaut, wenn sie sich wiederholt geteilt haben, wie zur Vermeidung von Wiederholungen schon hier bemerkt sei.

Man könnte erwarten, nach Analogie mit den Vorgängen bei der Furchung der Metazoeieier und entsprechend den Vorgängen bei der von SCHAUDINN (1900) beobachteten Sporogonie von *Eimeria schubergi*, daß die zweite Kernteilung so erfolgt, daß die Achsen beider Spindeln sich unter einem rechten Winkel kreuzen; doch ist dies keineswegs stets der Fall, mitunter sind sogar beide Achsen einander ziemlich parallel.

Die zweite Kernteilung verläuft bedeutend einfacher als die erste. Es werden keine Chromosomen gebildet, sondern die Chromatinplatten strecken sich in die Länge (Fig. 48a), und darauf ordnen sich die Chromatinkörnchen in mehreren Zügen an, die von einem Ende des in die Länge gestreckten Kerns zum anderen laufen. Dieser besitzt jetzt die Form einer Spindel, die jedoch keinen kreis-

förmigen Querschnitt hat, sondern der Oberfläche der Oocyste flach anliegt. Beide Pole der Spindel liegen unmittelbar unter der Zelloberfläche; sie rücken ein Stück auseinander und die Chromatinzüge reißen einer nach dem anderen in der Mitte durch. Wie bei der ersten Kernteilung (vgl. S. 410) gewinnt man auch bei der zweiten, nachdem die Chromatinzüge zerrissen sind, häufig den Eindruck, als habe man regelrechte Chromosomen vor sich, die von beiden Polen aus nach dem Äquator der Kernspindel ausstrahlen (Fig. 48b). Zwischen den chromosomenartigen Figuren beider Teilkerne kann man dann auch häufig noch Spindelfasern erkennen. — Wenn der Sporont vier Kerne enthält, erfolgen die weiteren Kernteilungen nicht mehr genau gleichzeitig; auch währen die Ruhestadien nie sehr lange, so daß man ein Stadium mit 8 ruhenden Kernen selten, mit 16 ruhenden Kernen wohl niemals mehr beobachten kann.

Die Kernteilungen, die auf das Vierkernstadium folgen, sind gegen die zuletzt beschriebene Art wiederum nicht unerheblich vereinfacht. Der Kern streckt sich in die Länge und wird spindelförmig, ohne daß jedoch Spindelfasern auftreten. Es bilden sich zwar einzelne getrennte Chromatinzüge aus, doch sind diese sehr unregelmäßig und können kaum noch für Chromosomen gehalten werden. Die Chromatinzüge zerreißen dann, und die beiden Pole der Spindel rücken noch ein Stück auseinander, ohne daß jedoch auch jetzt Spindelfasern auftreten. Dann sondern sich beide Teilkerne völlig voneinander und kehren zum Ruhestadium zurück; die ruhenden Kerne (Fig. 49) sind von denen des Zweikernstadiums nur durch ihre geringere Größe unterschieden.

Diese späteren Kernteilungen erinnern außerordentlich an die letzten Kernteilungen in der Sporogonie von *Eucoccidium eberthi*, die SIEDLECKI (1898) beschrieben und in Figur 23, 24 abgebildet hat, nur habe ich keinen Zwischenkörper beobachten können; außerdem ist der helle Hof, den man auch bei *Orcheobius* um die Kerne erkennen kann, nicht so scharf gegen das Plasma abgegrenzt, wie ihn SIEDLECKI von *Eucoccidium eberthi* zeichnet.

Wenn die Kernteilung sich so oft wiederholt hat, daß gegen 16 Kerne in der Oocyste vorhanden sind, werden die weiteren Kernteilungen noch etwas einfacher. Das Chromatin ordnet sich nur in der Nähe des Äquators der Spindel in etwa zwei bis vier parallelen Zügen an, in der Gegend der Pole bildet es einen unregelmäßigen Haufen (Fig. 50). Bei den letzten Kernteilungen endlich, die vor der Bildung der Sporoblasten stattfinden, unterbleibt die spindelartige Anordnung des Chromatins vollständig; der Kern nimmt ein-

fach (Fig. 51) zunächst Semmelform, dann Hantelform an, darauf schnürt er sich vollständig durch; es handelt sich also hier um die einfachste Form direkter Kernteilung.

Die Kerne bleiben während aller dieser Vorgänge stets ganz dicht unter der Oberfläche liegen. Sie sind nur bedeckt von einer ganz dünnen Plasmaschicht, in der keine Zooamylumkörner liegen. Zum Schluß sind etwa 50—60 Kerne vorhanden. Da ihre Zahl anscheinend niemals eine Potenz von zwei ist, so folgt, daß nicht alle Kerne der gleichen Generation angehören, sondern daß nach der fünften Teilung einige im Ruhezustand verharren, die meisten dagegen noch einmal sich teilen. Aus der Schilderung der verschiedenen bei der Sporogonie vorkommenden Kernteilungen dürfte man ersehen haben, daß die erste Kernteilung gewisse nicht unbedeutende Ähnlichkeiten mit der typischen Karyokinese aufweist, daß die späteren dagegen, indem sie sich allmählich mehr und mehr vereinfachen, verschiedene Übergänge bilden bis zur ganz einfachen direkten Kernteilung.

Es dürfte nun nicht unwahrscheinlich sein, daß diese einfachen späteren Kernteilungen nicht als sehr ursprüngliche Vorgänge aufzufassen sind, sondern daß sie durch Rückbildung aus solchen Kernteilungen entstanden sind, welche der ersten nach der Befruchtung gleichen. Die rasche Aufeinanderfolge der Teilungen und die Kleinheit der Kerne liefert vielleicht eine Erklärung für diese merkwürdige Erscheinung.

Es taucht nun die Frage auf, ob die erste Kernteilung vielleicht eine primitive Karyokinese ist oder ob auch sie aufgefaßt werden muß als durch Rückbildung aus einer typischen Karyokinese entstanden. Zur Entscheidung dieser Frage mag folgende Überlegung dienen:

In der typischen Karyokinese dienen die Chromosomen, die sich der Länge nach spalten, dazu, eine möglichst gleichmäßige Verteilung des Chromatins zu verbürgen. Bei *Orcheobius herpobdellae* kann dieser Zweck unmöglich erfüllt werden, da erstens keine Längsspaltung der Chromosomen stattfindet und da zweitens auch eine der Zahl nach gleichmäßige Verteilung der Chromosomen auf beide Tochterkerne nicht geschieht; die Chromosomen bilden sich ja zurück, ehe die Teilung erfolgt. Eine andere Bedeutung, welche die Chromosomen haben sollten, ist aber keineswegs zu erkennen. Dieses merkwürdige Verhalten der Chromosomen wird verständlich durch die Annahme, daß die in Rede stehende Kernteilung nicht eine primitive,

sondern eine rückgebildete Karyokinese ist, daß also die Chromosomen hier als rudimentäre Organe der Kernteilung aufzufassen sind.

Aus der umfangreichen Literatur über Coccidien ist mir nichts bekannt geworden, was man mit dieser merkwürdigen ersten Kernteilung in der Sporogonie von *Orcheobius* vergleichen könnte. Dagegen muß hingewiesen werden auf die erste Kernteilung in den Sporen von *Clepsidrina ovata*. Nach SCHNITZLER's (1905) Untersuchungen über diese Gregarine bildet sich in einer regelrechten Teilungsspindel eine aus kugelförmigen Chromosomen bestehende Äquatorialplatte, und die Chromosomen rücken, indem sie sich fadenförmig verlängern, gegen die beiden Pole; diese Umwandlung der kugelförmigen in dünne, fadenförmige Chromosomen dürfte wohl im wesentlichen die gleiche Erscheinung sein wie das Auseinandertreffen der Chromosomen von *Orcheobius* an den Spindelfasern.

Wenn in der Oocyste von *Orcheobius* etwa 50—60 Kerne vorhanden sind, beginnt der Zerfall des Sporonten in die einzelnen Sporoblasten. Zwischen je zwei Kernen, welche in der Regel aus einer Kernteilung hervorgegangen sein dürften, beginnt das Protoplasma, sich ein wenig buckelartig hervorzuwölben, häufig noch bevor die zwei Kerne völlig voneinander getrennt sind. Dann beginnt auf der Oberfläche ein System von Furchen sich anzubilden, durch welche Bezirke abgesondert werden, die je ein Paar von Kernen enthalten.

In jedem dieser Bezirke wölbt sich das Plasma pyramidenförmig ein wenig vor (Fig. 16). Es erinnert das ein wenig an ähnliche Dinge, die von anderen Coccidien, z. B. von der *Eimeria* der Maus durch SCHUBERG (1895) und von *Eimeria stiedae* durch METZNER (1902) beschrieben wurden. Doch bilden sich bei diesen Formen die Pyramiden erst, nachdem die Sporoblasten völlig voneinander getrennt sind, während sie bei *Orcheobius* aufzutreten scheinen, bevor die simultane Zellteilung stattgefunden hat; auch werden bei diesem nicht, wie bei den genannten Formen, irgend welche Körperchen von den Pyramiden spitzen abgeschnürt oder ausgestoßen. Die Pyramiden bilden sich sehr bald wieder zurück, und die Furchen dringen dann so tief in das Innere der Sporonten ein (Fig. 52, 53), bis sie sämtlich im Centrum zusammenstoßen. Dadurch zerfällt der Sporont in 25—30 zweikernige Zellen, welche etwa die Gestalt von Kegeln haben mit abgestumpfter Spitze und ausgebauchter Grundfläche (Fig. 53). Zunächst hängen diese Zellen mit den Kegelspitzen im Mittelpunkt der Oocyste noch zusammen, bald aber trennen sie sich ohne Bildung eines Restkörpers völlig voneinander. Die zwei Kerne

liegen nahe dem distalen Ende der Sporoblasten dicht unter der Oberfläche.

Eine ähnliche Form und Anordnung zeigen die in Bildung begriffenen Sporoblasten von *Hyalosphaera gregarinicola* nach DOGIEL (1906); auch hier hängen die langgestreckten Sporoblasten mit ihrem kernlosen Ende in der Mitte der Oocyste zusammen; bei ihrer Trennung bildet sich jedoch — im Gegensatz zu *Orcheobius* — ein Restkörper. Während ferner bei *Hyalosphaera* die Sporoblasten ihre langgestreckte Form dauernd — auch als Sporocysten — beibehalten, verharren sie bei *Orcheobius* nur kurze Zeit in diesem Zustand (ich habe ihn nur in wenigen Fällen beobachtet) und kontrahieren sich dann, wobei sie zunächst eiförmig (Fig. 54) und dann kugelförmig (Fig. 18', 55) werden. Wenn sie die letztere Gestalt besitzen, scheiden sie eine ziemlich dicke und fast undurchlässige Hülle ab und verwandeln sich damit in Sporocysten (Sporen), welche je zwei Kerne enthalten.

Daß von vornherein in den jungen Sporoblasten zwei Kerne vorhanden sind, ist meines Wissens erst bei einem Coccidium, und zwar bei *Isospora lieberkühni* LABBÉ aus der Niere von *Rana esculenta* durch LAVERAN und MESNIL (1902A) beobachtet worden. Bei allen übrigen näher bekannten Coccidien zerfällt der Sporont in so viele Sporoblasten, als Kerne vorhanden sind.

Wegen der oben erwähnten schweren Durchdringbarkeit der Sporocystenwand, welche die Färbung wesentlich erschwert, wurden die Kerne nur an Schnitten studiert. Daß das Gemisch von Eisessig und absolutem Alkohol, welches zum Konservieren benutzt wurde, gut durch die Sporocystenmembran durchdringt, ergibt sich aus der Tatsache, daß auf den Schnitten der Inhalt der Sporocysten sich in der Regel als gut konserviert erwies. Bei anderen Coccidien ist übrigens die Oocystenmembran gegen Farbstoffe undurchlässig. So gelang es METZNER (1903) nicht, die Oocysten von *Eimeria stiedae* zu färben, und SERGENT (1902) war ebensowenig erfolgreich bei *Isospora mesnili*.

Auch in den Sporocysten liegen die Kerne unmittelbar unter der Oberfläche, nur von einer dünnen Plasmaschicht bedeckt. Sie bilden, ähnlich wie der ungeteilte Kern der Mikrogametocyte kurz vor der Teilung, eine der Oberfläche ziemlich dicht anliegende, infolgedessen etwas gebogene Chromatinplatte (Fig. 56). Eine Kernmembran und ein Hohlraum im Kern sind nicht vorhanden. Erstere hat sich ja schon vor der ersten Kernteilung in der Oocyste rückgebildet und ist seitdem nicht wieder aufgetreten. — Beide Kerne

nehmen dann eine etwas zackige Form an und teilen sich darauf durch einfache Durchschnürung auf amitotischem Wege in der in Fig. 58, 59 dargestellten Weise. Die Richtungen, in denen die Kernteilungen erfolgen, sind in keiner Weise voneinander abhängig. Die vier Kerne, die jetzt vorhanden sind, ordnen sich so an, daß sie ungefähr in den vier Ecken eines der Sporocyste eingeschriebenen Tetraeders liegen. Ihr Chromatin besteht aus einer ziemlich geringen Zahl ansehnlicher runder Körnchen. Diese werden vorübergehend etwas länglich und ordnen sich sternförmig an (Fig. 60), bald jedoch kehrt der Kern wieder zu der gewöhnlichen Form zurück. Eine Anzahl rundliche Chromatinkörnchen sind durch ein netzigwabiges Gerüst miteinander verbunden (Fig. 61). In der Nähe der Kerne sammelt sich Protoplasma an, das von Zooamylumkörnern frei ist. Schließlich heben sich vier langgestreckte Zonen körnerfreien Plasmas, deren jede einen Kern enthält, vom übrigen Plasma ab; sie trennen sich dann vollständig los, und es bilden sich auf diese Weise 4 Sporozoiten, die einem sehr ansehnlichen Restkörper anliegen. Die Tatsache, daß die Zooamylumkörner im Restkörper verbleiben, läßt es mir (wie auch BÜTSCHLI 1880—82 S. 517 bei Gregarinen) zweifelhaft erscheinen, ob sie bei *Orcheobius herpobdellae* als Reservematerialien dienen: es wäre dies nur möglich, wenn man annimmt, daß die Sporozoiten, nachdem sie vom Restkörper sich losgelöst haben, auf dessen Kosten wachsen. Ich habe jedoch dies nicht nachweisen können; vielmehr war stets ein ansehnlicher Restkörper (Fig. 20) in der Sporocyste vorhanden; auch wenn sein Plasma abgestorben und zum Teil zerfallen war, lagen doch zahlreiche Zooamylumkörner zwischen den Sporozoiten. Diese lagern sich bald in folgender Weise: Je zwei legen sich mit ihren Achsen parallel zueinander und drängen sich dicht zusammen. Die einzelnen Sporozoiten sind etwas gekrümmt, so daß sie sich der Oberfläche der Sporocyste dicht anlagern. Ihre Länge beträgt etwas über den dritten Teil des Sporocysten-Umfangs. Die Sporozoiten jedes Paares sind denen des anderen mit je einem ihrer Enden stark genähert, mit dem anderen Ende dagegen nicht.

Nicht selten findet man übrigens mehr als 4 Sporozoiten, recht häufig z. B. 6, in einer Sporocyste, was unten näher erörtert werden soll; dies mag wohl davon herrühren, daß die Furchenbildung mitunter etwas unregelmäßig erfolgt, so daß gelegentlich mehr als zwei Kerne in einen Sporoblasten gelangen.

Der feinere Bau der Sporozoiten läßt sich auch am lebenden Objekt recht gut studieren. Wenn man ein wenig auf das Deck-

glas eines nicht zu dicken Präparats drückt, das reife Oocysten entweder in physiologischer Kochsalzlösung oder in Eiweißlösung enthält, dann werden zunächst die Sporocysten aus ihrer natürlichen Lage gedrängt; bei stärkerem Druck platzt die Hülle sowohl der Oocysten als auch der Sporocysten, und die Sporozoiten (Fig. 21) werden frei.

Man erkennt dann, daß sie die wurmförmige Gestalt der meisten Sporozoiten besitzen und an einem Ende, dem Hinterende, mehr abgerundet, am anderen Ende, dem Vorderende, ziemlich spitz sind. Das spitze Ende ist stärker lichtbrechend als das übrige Plasma. Oft ist am lebenden Objekt der in der Mitte liegende Kern deutlich zu erkennen (Fig. 21 a). Das Plasma ist deutlich wabig gebaut, was auch am lebenden Sporozoiten außerordentlich leicht zu beobachten ist; es enthält eine geringe Anzahl stark lichtbrechender Körnchen. An gefärbten Präparaten sieht man, daß im Kern eine Anzahl von Chromatinkörnern vorhanden ist, während ein Binnenkörper nicht aufgefunden werden konnte. Letzterer bildet sich wahrscheinlich erst nach dem Ausschlüpfen der jungen Sporozoiten, wie SCHAUDINN (1900) bei *Eimeria schubergi* nachgewiesen hat.

Die Sporozoiten bewegen sich äußerst lebhaft in den Präparaten, und zwar waren die Bewegungen, die ich beobachtete, durchweg Krümmungen (Fig. 21); diese erfolgten nicht immer in einer Ebene, sondern die Sporozoiten krümmten sich mit ihren Enden häufig aus der Ebene heraus, wie das schon SCHUBERG (1895) vom *Coccidium* der Maus und SCHAUDINN (1900) von den *Lithobius*-Coccidien beschrieben hat.

Die von SCHAUDINN und SIEDLECKI (1897) bei *Lithobius*-Coccidien nachgewiesenen Kontraktionen und Vorwärtsbewegungen zu beobachten, gelang mir nicht. Wenn übrigens ein Sporozoit von *Orcheobius herpobdellae* sich krümmt, etwa bis er die Form eines C angenommen hat, so wird gleichzeitig seine Gestalt gedrungener; sein spitzes Ende rundet sich ab, so daß es von dem anderen kaum noch zu unterscheiden ist. Wenn er sich dann wieder gerade biegt, wird er gleichzeitig länger und schmaler; das Ende, das vorher etwas zugespitzt war, nimmt wieder diese Form an. Eine Streifung, wie sie nach SCHAUDINN und SIEDLECKI (1897) bei *Adelina ovata* und nach LÉGER (1898 A) bei *Echinospira* während der Bewegung auftritt, wurde bei *Orcheobius herpobdellae* nicht wahrgenommen.

Wie schon oben erwähnt, ließ sich nicht feststellen, wie die reifen Oocysten aus den Wirtstieren herausgelangen. In den Vasa

deferentia wurden die Parasiten trotz wiederholten Nachsuchens niemals gefunden; daher muß man vermuten, daß sie durch Absterben und Verwesen der infizierten *Herpobdellen* frei werden. Dafür spricht auch der folgende Versuch: Ich schnitt in den ersten Augusttagen eine mit reifen Oocysten stark infizierte *Herpobdella* in kleine Stücke und brachte die Stückchen in ein mit Wasser gefülltes, zugedecktes Schälchen. Als nach einigen Tagen die Fäulnis bereits stark fortgeschritten war, ließ sich feststellen, daß die Sporocysten in keiner Weise verändert waren, daß die Verwesung des Wirts den Sporocysten keinen Schaden gebracht hatte.

Abweichungen von der normalen Entwicklung.

Hiermit ist die Schilderung der normalen Entwicklung von *Orcheobius herpobdellae* innerhalb des Wirtstieres beendet. Ich möchte noch einiges hinzufügen über Abweichungen vom normalen Gange der Entwicklung und über Degenerationerscheinungen.

Bei der Schizogonie wurden solche nicht beobachtet, wohl aber bei der Sporogonie, und zwar oft in recht erheblichem Maße. Besonders Ende Juli und Anfang August, wenn in den normalen Oocysten die Sporogonie meist beendet ist, findet man zahlreiche Oocysten, die sich in abnormer Weise entwickelt haben, daneben jedoch sehr wenige normale Oocysten, deren Entwicklung noch nicht vollendet ist.

Sehr einfache Fälle abnormer Entwicklung sind es, wenn die Kerne in der Oocyste nach den Teilungen nicht genügend weit auseinander rücken, so daß sie alle in einer Hälfte oder einem noch geringeren Teil der Zelle angesammelt sind. In solchen Fällen ist auch der Modus der Kernteilung sehr stark vereinfacht und stimmt ziemlich genau mit der oben beschriebenen Art der letzten Kernteilung vor der Sporoblastenbildung überein. Was aus solchen Oocysten weiterhin wird, konnte leider nicht festgestellt werden.

Nicht selten kommt es auch vor, daß nach einer Kernteilung die zwei Tochterkerne sich bereits von neuem zu teilen beginnen, ehe sie völlig voneinander getrennt sind. Auch dann sind die Kernteilungen stets stark vereinfacht und als direkte Kernteilungen zu betrachten. Ein Extrem dieser Erscheinung ist in Fig. 62 abgebildet. Hier haben sich von dem ursprünglichen Kern der Oocyste einige kleine Chromatinhäufen losgelöst; der Rest des Kernes hat begonnen, sich amitotisch zu teilen. Es ist aber zu gar keiner

Teilung gekommen, und an den Enden des in die Länge gestreckten Kerns strebt das Chromatin wieder nach verschiedenen Richtungen auseinander. Es scheint mir, daß solche abnormen Kernteilungen uns zeigen, auf welchem Wege eventuell eine simultane Kernteilung aus einer wiederholten Zweiteilung entstanden sein kann. Ich will natürlich nicht behaupten, daß die multiple Kernteilung, wo sie bei Coccidien normalerweise auftritt, aus wiederholter Zweiteilung hervorgegangen sein müsse, möchte aber auf die Möglichkeit hinweisen.

Weitere Abweichungen von der normalen Entwicklung sind die folgenden: In einer Sporocyste bilden sich recht häufig nicht 4, sondern 6 Sporozoiten. Wahrscheinlich rührt dies, wie schon oben (S. 416) dargelegt wurde, von Unregelmäßigkeiten bei dem Zerfall der Oocyste in die Sporoblasten her. Bei der großen Anzahl der in einer Oocyste vorhandenen Kerne ist das Vorkommen solcher Unregelmäßigkeiten nicht überraschend, besonders in Anbetracht der Tatsache, daß die Zahl der Kerne keine bestimmte ist, also gelegentlich auch ungerade sein kann. Auffälliger ist schon, daß in einem Falle in einem beträchtlichen Teil des stark infizierten Hodens fast alle Sporocysten je 6 Sporozoiten enthielten. Manchmal ist die Anzahl der Sporozoiten in einer Sporocyste noch größer, die Zahl der Sporocysten in der Oocyste entsprechend geringer. Dann unterbleibt häufig die Ausbildung einer besonderen Hülle um die einzelnen Sporoblasten. Einige Oocysten habe ich sogar gesehen, deren Inhalt gar nicht in einzelne Sporoblasten zerfallen war, sondern in denen um einen einheitlichen großen Restkörper herum eine ziemlich große Anzahl von Sporozoiten frei in der Cyste lag; die Entwicklung war also in diesem Falle genau nach dem Typus der *Legerella* erfolgt. Nicht selten sind die in dieser Weise gebildeten Sporozoiten erheblich kleiner als die normalen. In anderen Fällen hatten sich von dem Plasma der Oocyste nur einige Sporoblasten abgetrennt und waren zu normalen Sporocysten geworden, während der Rest sich nach der Art der *Legerella* weiter entwickelt hatte.

Neben der Unregelmäßigkeit der Erscheinungen und der Tatsache, daß sie besonders häufig zu einer Zeit beobachtet wurden, in der die Entwicklung der normalen Oocysten bereits vollendet war, spricht gerade das Vorhandensein von Übergängen dafür, daß es sich hierbei nicht etwa um eine zweite in der *Herpobdella* vorhandene Coccidienart oder um nicht erkannte Komplikationen in der Entwicklung von *Orcheobius*, sondern tatsächlich um abnorme Entwicklungserscheinungen handelt.

Das Verhältnis des Parasiten zum Wirt. Abhängigkeit von der Jahreszeit.

An dem oben (S. 382) angegebenen Fundort waren die Orcheobien in der entsprechenden Jahreszeit bis zum Sommer 1904 ziemlich häufig. Es enthielt ungefähr jede fünfte *Herpobdella* eine größere oder kleinere Anzahl von ihnen im Hoden. Dagegen wurden die Parasiten bis zum Sommer des Jahres 1903 einschließlich bei Heidelberg selbst trotz wiederholten Nachsuchens nicht gefunden. Seit 1904 wurden sie indessen auch hier, zuerst von Herrn Lehramtspraktikant LÖSER und dann wiederholt 1905 von Herrn Professor SCHUBERG und 1906 von Herrn DUKE angetroffen. Es ist demnach nicht unwahrscheinlich, daß die Infektion sich stromabwärts ausgebreitet hat. Umgekehrt war im Sommer 1905 (nach Beobachtungen von SCHUBERG, vgl. SCHUBERG und KUNZE 1906) die Zahl der infizierten Bluteigel anscheinend geringer, und diese selbst wurden an der ursprünglichen Fundstelle nur in sehr kleiner Zahl angetroffen. Es dürfte wohl nicht unberechtigt sein, für diese Verminderung der Wirtstiere die starke Infektion in den vorangehenden Jahren verantwortlich zu machen.

Eine Schädigung der Fortpflanzung der Herpobdellen durch die Parasiten ist ja auch im höchsten Maße wahrscheinlich, denn man findet im Juli nicht selten Herpobdellen, deren Hoden von Orcheobien fast ganz erfüllt ist. Freilich scheinen auch diese Tiere nicht völlig unfruchtbar zu sein; denn auch bei solchen Exemplaren findet man in den Vasa deferentia stets zahlreiche Spermatozoen, welche anscheinlich zur Reife gelangt sind, bevor die Infektion ihren Höhepunkt erreicht hat.

Wie oben (S. 382) erwähnt wurde, vermag man sehr stark infizierte Exemplare der *Herpobdella octoculata*, wenn die Orcheobien sich auf dem Stadium der ausgewachsenen Makrogameten und Mikrogametocyten befinden oder wenn die Sporogonie bereits vollendet ist, äußerlich von gesunden Tieren zu unterscheiden. Die Ventralseite der ganzen hinteren Körperregion ist bei solchen Exemplaren leicht angeschwollen und zeigt eine eigentümliche milchig weiße Färbung. Es wurde schon oben (S. 382) bemerkt, daß hierdurch die Parasiten zuerst aufgefunden wurden. Schwächer infizierte Herpobdellen dagegen und solche, in denen die Parasiten weniger weit entwickelt und daher kleiner sind, gleichen äußerlich den gesunden Exemplaren völlig.

Wiederholt ist in der vorliegenden Arbeit darauf hingewiesen

worden, daß die Entwicklung von *Orcheobius herpobdellae* ganz streng von der Jahreszeit abhängig ist. Etwa vom 10. August bis zum Anfang des April waren die Orcheobien überhaupt nicht in den Herpobdellen nachzuweisen. Dann fanden sich von Anfang April ab nur Parasiten, die sich ungeschlechtlich fortpflanzten; dagegen wurde in den zahlreichen von mir untersuchten Herpobdellen nach Mitte Mai kein einziges derartiges Exemplar mehr beobachtet; ebenso wurden die reifen Oocysten niemals vor Anfang Juni aufgefunden.

Eine ähnliche Abhängigkeit von der Jahreszeit und der Fortpflanzung des Wirtstieres wurde bereits durch SCHUBERG (1895) von dem Coccidium der Tritonen nachgewiesen; er fand im Darne von *Triton taeniatus* und *alpestris* im Winter und Frühjahr nur Dauerstadien, die Schizogoniestadien dagegen nur im Sommer während des Fortpflanzungsgeschäftes.

Beziehung zu verwandten Formen.

In seinem Entwicklungsgange besitzt *Orcheobius herpobdellae*, wie die gesamten obigen Ausführungen zeigen, eine bedeutende Ähnlichkeit mit vielen bisher bekannten Coccidien mit polyzoischer Oocyste, hauptsächlich mit den verschiedenen Arten der Gattung *Adelea* und ganz besonders mit *Klossia helicina*, mit der er auch in der Zahl der in einer Sporocyste befindlichen Sporozoiten übereinstimmt. Dennoch unterscheidet sich *Orcheobius* von *Klossia* durch die eigenartige Form der ausgewachsenen Makrogameten und Mikrogametocyten nicht unerheblich, und es erwies sich daher als notwendig, eine eigene Gattung für die neue Form aufzustellen; der Parasit erhielt daher nach seinem Vorkommen den Namen *Orcheobius herpobdellae* SCHUBERG et KUNZE (1906). Es sei hier, der Vollständigkeit halber, die sowohl für die Gattung als auch für die bisher einzige Art gültige Diagnose wiederholt (nach SCHUBERG und KUNZE 1906):

„Mit Generationswechsel. Schizogonie innerhalb der Cytophoren des Herpobdellahodens. Aufnahme der letzten Merozoitengeneration durch die Lymphocyten des Hodens, welche durch die heranwachsenden Parasiten zu einer dünnen Hülle um diese deformiert werden. Mikrogametocyten und besonders Makrogameten von *Monocystis*-artiger Form, doch unbeweglich; mit reichlichen Zooamylumkörnern. 4 Mikrogameten; Oocyste ellipsoid; mit zahlreichen (25–30) Sporen; Sporen tetrazoisch; kugelig. Größe der reifen Makrogameten 180 μ L. bei 30 μ Br., der Mikrogametocyten 50 μ L. bei 12 μ Br. Habit.: Hoden von *Herpob-*

della atomaria. Beginn der Schizogonie April. Ende der Sporogonie Anfang bis Mitte August“.

Durch die Gestalt der ausgewachsenen Formen nähert sich *Orcheobius herpobdellae* den Gregarinen, speziell Monocystideen. Eine ähnliche langgestreckte Gestalt besitzt unter allen bekannten Coccidien meines Wissens nur noch *Angeiocystis audouinii*, bei welcher nach BRASIL (1904 B) die „stades de croissance“ eine Länge von 50 μ , dagegen nur einen Durchmesser von 15 μ erreichen, und allenfalls wäre hier noch *Adelea dimidiata coccidioides* zu erwähnen, (LÉGER und DUBOSCQ 1903 A) das in seiner Gestalt ebenfalls an eine *Monocystis* erinnert.

Orcheobius ist übrigens den Monocystideen noch in anderer Hinsicht ähnlich, nämlich durch das wenigstens zeitweise Auftreten dentlicher Chromosomen und durch seine Ernährungsweise. Die Makrogameten und Mikrogametocyten des *Orcheobius* ziehen nämlich ihre Nahrung, wie oben geschildert wurde, obwohl sie intracellulär in den Lymphocyten bleiben, aus der Hodenflüssigkeit; sie verhalten sich also zu den Lymphocyten genau wie die *Monocystis*-Arten des Regenwurms zu den von ihnen bewohnten Cytophoren.

Bisher konnte eine echte Karyokinese noch bei keinem Coccidium nachgewiesen werden, während sie bei Gregarinen außerordentlich häufig vorkommt. Die größte Ähnlichkeit mit einer typischen Mitose scheint nun von allen beobachteten Teilungen von Coccidienkernen die erste Kernteilung in der Sporogonie von *Orcheobius* zu haben. Es ist (vgl. oben S. 45) höchst wahrscheinlich, daß man es hier mit einer rückgebildeten Karyokinese zu tun hat, und die Tatsache, daß ein den Monocystideen ziemlich nahe stehendes Coccidium diese eigentümliche Kernteilung zeigt, während bei den Monocystideen und anderen Gregarinen echte Karyokinese allgemein verbreitet ist, dürfte eine nicht unwesentliche Stütze bilden für die Vermutung, daß die Monocystideen die gemeinsamen Stammformen der Gregarinen und Coccidien sind, eine Vermutung, welche bereits 1899 von MESNIL ausgesprochen wurde.

Daß die Beziehungen zwischen Gregarinen und Coccidien in der Tat äußerst nahe sind, wie BÜTSCHLI, der die Coccidien damals als eine Gruppe der Monocystideen auffaßte, schon 1880—82 betonte, hat sich in neuerer Zeit immer mehr herausgestellt. Abgesehen davon, daß *Orcheobius herpobdellae* kein typischer intracellulärer Parasit ist, haben LAVERAN und MESNIL (1902 B) bereits vor längerer Zeit ein Coccidium, *Eimeria mitraria*, im Darm der Schildkröte *Damoniea reevesii* nachgewiesen, welches gleich den Gregarinen extracellulär

lebt, und bereits vorher hatte LABBÉ (vgl. LABBÉ 1896, S. 626) von einigen Coccidien angegeben, daß sie im ausgewachsenen Zustande intercellulär leben, was SIEDECKI (1898) von *Eucoccidium octopianum* bestätigte. Die hier zu erwähnende Angabe von A. BRAULT et M. LOEPER¹⁾ (1904), daß auch die *Eimeria stiedae* der Kaninchen, und zwar während ihrer ganzen Entwicklung, extracellulär ist, dürfte wohl auf grobem Irrtum beruhen.

An die gemeinsame Encystierung zweier Gregarinen erinnert die Anlagerung der Mikrogametocyten an die Makrogameten vieler Coccidien. — Während man eine Zeitlang glaubte, daß von den anisogamen Coccidien die Gregarinen durch ihre Isogamie scharf getrennt seien (SIEDECKI 1899 B), hat es sich durch die Untersuchungen LÉGERS (1901, 1902 und 1904 A) und anderer Forscher (vgl. besonders LÉGER et DUBOSCQ 1902 B und 1903 B, NUSSBAUM 1903 und BRASIL 1904 A, 1905) herausgestellt, daß sehr viele Gregarinen anisogam sind. — Durch CAULLERY und MESNIL wurde 1898 die Schizogonie einer Gregarine entdeckt, und bald wurde auch für andere Gregarinen die Schizogonie nachgewiesen. (LÉGER 1900, CAULLERY und MESNIL 1901). — Daß die gleitende Vorwärtsbewegung der Coccidiensporozoiten in der gleichen Weise erfolgt wie bei den Gregarinen (SCHEWIAKOFF 1894), das nachzuweisen gelang SCHAUDINN (1900). Kurz, man findet kaum noch einen wesentlichen und durchgreifenden Unterschied.

¹⁾ Die schon oben (S. 395) angeführte Arbeit der beiden genannten Autoren erweckt noch aus anderen Gründen Widerspruch. Es findet sich auf p. 720 über das sogenannte *Coccidium oviforme* (*Eimeria stiedae*) die Angabe: „Il est représenté par des sporozoaires à corps un pendant le jeune âge, s'entourant, à mesure qu'ils s'accroissent, d'une enveloppe on coque résistante.“ Auf p. 724 bilden sie als „coccidies nnes“ Körper ab, welche, obwohl extracellulär liegend, ganz das Aussehen von Schizonten mit zahlreichen (auf der Figur sind bis zu 19 sichtbar) Kernen haben. BRAULT und LOEPER scheinen der Ansicht zu sein, daß diese vielkernigen Coccidienstadien sich encystieren und weiterhin Sporocysten und Sporozoiten bilden. Von einer Schizogonie wird nichts erwähnt. Die Verfasser, die mit einer solchen Ansicht nach meiner Kenntnis der Literatur zurzeit völlig allein zu stehen scheinen, berücksichtigen die so außerordentlich reiche moderne Coccidienliteratur überhaupt nicht, und man darf wohl annehmen, daß ihnen dieselbe zum allergrößten Teil unbekannt geblieben ist. Die Bemerkung auf p. 721: „... les auteurs reproduisent invariablement une figure empruntée à BALBIANI“ kann sich wohl nur auf Lehr- oder Handbücher, aber nicht auf die Originalliteratur beziehen.

Literaturverzeichnis.

- BOLSUS, H. (1895): Note préliminaire sur des parasites de quelques Hirudiniées. in: Ann. de la Soc. sci. de Bruxelles 1895 V. 19 2. part. 4 p. 1 pl.
- (1896): Un parasite de la *Glossiphonia sexoculata*. Mem. Pontif. Accad. Nuovi Lincei V. 11 5 p., 1 pl.
- BONNET-EYMAR, G. (1900): Sur l'évolution de l'Eimeria nova SCHN. in: C. R. Soc. Biol. Paris 30 juin 1900 V. 52.
- BRASIL, L. (1904 A): Contribution à la connaissance de l'appareil digestif des Annélides polycètes. L'épithélium intestinal de la Pectinaire. in: Arch. zool. expér. et gén. 4. série V. 2 p. 91—255, 5 pls. 24 figg.
- (1904 B): Sur une Coccidie nouvelle, parasite d'un Cirratulien. in: C. R. Acad. d. Sci. Paris V. 139 p. 645—646. (24. X. 04.)
- (1905): Nouvelles recherches sur la reproduction des Grégarines monocystidées. in: Arch. zool. expér. et gén. 4. série V. 4 p. 69—100, 2 pls.
- BRAULT, A. et LOEPER, M. (1904): Le glycogène dans le développement de quelques organismes inférieurs. (Sporozoaires, Coccidies, Champignons, Levures.) in: Journ. de Physiol. et de Pathol. gén. V. 6 No. 4 p. 720—731, pl. V.
- BÜTSCHLI, O. (1871): Notiz über das Vorkommen einer dem Amyloid verwandten Substanz in einigen niederen Tieren. in: Arch. f. Anat. n. Physiol. 1871 p. 362—365 tab. IX B.
- (1880—82): Protozoa. I. Abt.: Sarkodina und Sporozoa. in: BRONN's Klassen und Ordnungen V. 1.
- (1885): Bemerkungen über einen dem Glycogen verwandten Körper in den Gregarinen. in: Zeitschr. f. Biol. 1885 p. 603—612.
- (1890): Über den Bau der Bakterien und verwandter Organismen. in: Verh. d. naturh.-med. Ver. Heidelberg, 6. XII. 89.
- (1903): Untersuchungen über Amylose und amyloseartige Körper. in: Verh. d. naturh.-med. Ver. Heidelberg N. F. V. 7 p. 420—518.
- CASTLE (1900): Some North-American freshwater Rhynchobdellidae, and their parasites. in: Bull. of the museum of Compar. Zool. at Harvard College V. 36 No. 2 p. 17—61, pl. I—VIII.
- CAULLERY, M. et MESSIL, F. (1898): Sur une Grégarine coelomique présentant, dans son cycle évolutif, une phase de multiplication asporulée. in: C. R. Soc. Biol. Paris 15. I. 98 V. 50.
- — (1901): Le parasitisme intracellulaire et la multiplication asexuée des Grégarines. in: C. R. Soc. Biol. Paris 26. I. 01 V. 53.
- CUÉNOT, L. (1902): Legerella testiculi nov. spec., Coccidie parasite du testicule de Glomeris. in: Arch. zool. expér. et gén. 3. série V. 10. Notes et Revue No. 4—5 p. 49—53.
- DOGIEL, V. (1906): Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. in: Arch. f. Protistenk. V. 7 p. 106—130, Taf. III.
- KLOSS, H. (1855): Über Parasiten in der Niere von Helix. in: Abb. d. Senckenb. naturf. Ges. V. 1 p. 189—213, Tab. XV—XVI.
- KOWALEWSKY, A. (1899 A): Zur Biologie der Haementaria (Clepsine) costata Fil. (MÜLLER). (Vorläufige Mitteilung.) in: Trav. de la Soc. Impér. des Natural. St. Petersburg V. 30 Livr. 1 p. 23—30 (russisch); deutsches Résumé p. 33—34.

- (1899B): Étude biologique de l'*Haementaria costata* MÜLLER. in: Mem. de l'Acad. d. sci. St. Petersbourg 8. série Cl. phys.-math. V. 11 No. 1 p. 1—77, pl. I—X.
- LARRÉ, A. (1896): Recherches zoologiques, cytologiques et histologiques sur les Coccidies. in: Arch. zool. expér. et gén. 3. série V. 4 p. 517—654, Tab. XII—XVIII.
- LAVERAN, A. (1898): Sur les modes de reproduction de *Klossia helicina* SCHN. in: C. R. Soc. Biol. Paris 26. XI. 98 V. 50.
- LAVERAN, A. et MESSIL, F. (1902A): Sur la Coccidie trouvée dans le rein de la *Rana esculenta* et sur l'infection générale qu'elle produit. in: C. R. Acad. d. Sci. Paris V. 135 No. 2 p. 82—87, 11 fig.
- — (1902B): Sur quelques Protozoaires parasites d'une Tortue d'Asie (*Damonie Reevesii*). in: C. R. Acad. d. Sci. Paris V. 135 No. 16 p. 609—614, 14 fig.
- LÉGER, L. (1898A): Essai sur la classification des Coccidies et description de quelques espèces nouvelles ou peu connues. in: Bull. du Musée de Marseille V. 1 fasc. 1 p. 71—123, Tab. V—VIII.
- (1898B): Sur les microgamètes des Coccidies. in: C. R. Soc. Biol. Paris 11. VI. 98 V. 50.
- (1900): Sur un nouveau Sporozoaire des larves des Diptères. in: C. R. Soc. Biol. Paris 27. X. 00 V. 52.
- (1901): Les éléments sexuels et la copulation chez les *Stylorhynchus*. in: C. R. Acad. d. Sci. Paris 26. VIII. 01.
- (1902): Note sur le développement des éléments sexuels et la fécondation chez les *Stylorhynchus longicollis*. in: Arch. zool. expér. et gén. 3. série V. 10. Notes et Revue No. 4—5.
- (1904A): La reproduction sexuée chez les *Stylorhynchus*. in: Arch. f. Protistenk. V. 3 p. 303—357, Taf. XIII—XIV 8 Textfig.
- (1904B): Sporozoaires parasites de l'*Embia solieri* RAMBUR. in: Arch. f. Protistenk. V. 3 p. 358—366, 7 Textfig.
- LÉGER, L. et DUBOSCQ, O. (1902A): Les Grégarines et l'épithélium intestinal chez les Trachéates. in: Arch. de Parasit. V. 6 p. 377—473, pl. II—VI.
- — (1902B): Les éléments sexuels et la fécondation chez les *Pterocephalus*. in: C. R. de l'Acad. d. Sci. Paris 20. V. 02, 2 pag.
- — (1903A): Sur l'*Adelen dimidiata* coccidioides LÉGER et DUBOSCQ. Coccidie parasite de la *Scelopendra oraniensis lusitanica* Verh. in: C. R. Ass. franç. Av. Sc.; 31. session II p. 714—716.
- — (1903B): La reproduction sexuée chez *Pterocephalus*. in: Arch. zool. expér. et gén. 4. série V. 1. Notes et Revues p. 141—150, 11 fig.
- LÜCKE, M. (1903): Die Coccidienliteratur der letzten vier Jahre. Zool. Centralbl. X. Jahrg. p. 617—661.
- MAUPAS, E. (1886): Sur les granules amyloïdes du cytosome des Grégarines. in: C. R. Acad. d. Sci. Paris V. 102 p. 120—123.
- MESSIL, F. (1899): Essai sur la classification et l'origine des Sporozoaires. in: Cinquenaire de la Soc. d. Biol.
- MEITZNER, R. (1903): Untersuchungen an *Coccidium canaliculi*. I. Teil. in: Arch. f. Protistenk. V. 2 p. 13—72. Taf. II.
- MEYER, A. (1904): Orientierende Untersuchungen über Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volvutins. Botan. Ztg. 1904 Heft 7.

- NESSEBAUM, J. (1903): Über die geschlechtliche heterogame Fortpflanzung einer im Darmkanale von *Heulea leptodera* VELD. schmarotzenden Gregarine *Schandinnella heuleae* mihi. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. V. 75 p. 281—307, 1 Taf.
- PÉREZ, CH. (1899): Sur une Coccidie nouvelle, *Adelea mesnili* n. sp., parasite colomique d'un Lepidoptère. in: C. R. Soc. Biol. Paris V. 51 p. 694—696.
- (1903): Le cycle évolutif de l'*Adelea mesnili*, Coccidie colomique parasite d'un Lepidoptère. in: Arch. f. Protistenk. V. 2 p. 1—12, Taf. I.
- SCHAUDINN, F. (1900): Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien. in: Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. u. Ontog. der Tiere V. 13 p. 197—292, Taf. XIII—XVI.
- (1902): Studien über krankheitserregende Protozoen. I. *Cyclospora caryolytica* SCHAUD., der Erreger der perniziösen Enteritis des Maulwurfes. in: Arch. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt V. 18 p. 378—416.
- SCHAUDINN, F. u. SIEDLECKI, M. (1897): Beiträge zur Kenntnis der Coccidien. in: Verh. d. deutsch. zool. Ges. 1897.
- SCHEWIAKOFF, W. (1894): Über die Ursache der fortschreitenden Bewegung der Gregarinen. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. V. 58 p. 340—354, Taf. XX—XXI.
- SCHNITZLER, H. (1905): Über die Fortpflanzung von *Clepidrina ovata*. in: Arch. f. Protistenk. V. 6 p. 309—333, Taf. XVI—XVII.
- SCHUBERG, A. (1895): Die Coccidien aus dem Darne der Maus. Verh. d. naturhist.-med. Ver. Heidelberg N. F. V. 5 30 S. Taf. IX.
- (1903): Untersuchungen über Zellverbindungen. I. Teil. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. V. 74 p. 155—325, Taf. IX—XV.
- SCHUBERG, A. u. KUNZE, W. (1906): Über eine Coccidienart aus dem Hoden von *Nephelis vulgaris* (*Herpobdella atomaria*), *Orcheohius herpobdellae* n. gen. u. sp. in: Verh. d. Deutsch. zool. Ges. 1906.
- SERGENT, E. (1902): Sur une Coccidie nouvelle parasite du Caméléon vulgaire. in: C. R. Soc. Biol. Paris V. 54 p. 1260—1261.
- SIEDLECKI, M. (1898): Etude cytologique et cycle évolutif de la Coccidie de la Seiche. in: Ann. de l'Inst. Pasteur V. 12 p. 799—836, pl. VII—IX.
- (1899 A): Etude cytologique et cycle évolutif de *Adelea ovata* SCHNEIDER. in: Ann. de l'Inst. Pasteur V. 13 p. 170—192 Taf. I—III.
- (1899 B): Über die geschlechtliche Vermehrung der *Monocystis ascidiae* R. LANK. in: Bull. intern. de l'Acad. des Sc. de Cracovie Dez. 1899 p. 515—537, pl. I—II.
- (1902): Cycle évolutif de la *Caryotropha mesnili*, Coccidie nouvelle des Polynices. Note préliminaire. in: Bull. Intern. de l'Acad. des Sc. de Cracovie Cl. Sci. math. et nat. 1902 p. 561—568.
- (1905): Sur le rôle du karyosome. (Über die Bedeutung des Karyosoms.) in: Bull. Intern. de l'Acad. des Sc. de Cracovie Cl. Sci. math. et nat. 1905 p. 559—581, pl. XVI.
- SIEGEL, C. (1903): Die geschlechtliche Entwicklung von *Haemogregarina stepanovi* im Rüsselegel *Placobdella catenigera*. in: Arch. f. Protistenk. V. 2 p. 339—342 7 Fig.
- WASIELEWSKY, TH. VON (1898): Über geißeltragende Coccidienkeime. Centralbl. f. Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten I. Abt. V. 24 p. 71—78.

Tafelerklärung.

Die Figuren wurden mit Hilfe eines ABBE'schen Zeichenapparates auf Objekttischhöhe entworfen.

Auf den Tafeln bedeutet: ♀ Makrogamet; ♂ Mikrogamet; bh Befruchtungshügel; bk Binnenkörper; cy Cytophor; ly Lymphocyt (bzw. Rest desselben); mi Mikrogametocyte; n Kern; o Oocystenhülle; rk Restkörper; sp Sporenmembran; wk Kern der Wirtszelle

In der Erklärung bedeutet: T.-Pr. Totalpräparat; di S. relativ dicker Schnitt (der ganze Parasit liegt in einem Schnitt, oder es sind nur unwesentliche Teile des Plasmas abgeschnitten); dü S. relativ dünner Schnitt (der Parasit ist selbst durchschnitten).

Tafel XVI.

Nach lebenden Präparaten gezeichnet.

Fig. 1. Junger Schizont in einem Cytophor. Imm. 2 mm, C.-Oc. 4.

Fig. 2 u. 3. In Teilung begriffene Schizonten. (Das Wirtscytophor wurde nicht gezeichnet.) Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 4. Junger Merozoit. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 5. Mehrere Merozoiten in einem Lymphocyt. Imm. 2 mm, C.-Oc. 4.

Fig. 6. Wie Fig. 5; der Lymphocyt enthält neben den jungen Orcheobien ein Cytophor. Imm. 2 mm, C.-Oc. 4.

Fig. 7. Heranwachsende Gametocyten in einem Lymphocyt. Imm. 2 mm, C.-Oc. 4.

Fig. 8. Ausgewachsener Makrogamet (♀) mit anliegendem Mikrogametocyt (mi). Imm. 2 mm, C.-Oc. 2.

Fig. 9. Der Makrogamet (♀) hat begonnen, sich zu kontrahieren, der Mikrogametocyt (mi) hat sich abgerundet. Imm. 2 mm, C.-Oc. 2.

Fig. 10 u. 11. Ähnlich Fig. 9; jedoch liegen zwei Mikrogametocyten (mi) dem Makrogameten (♀) an. Imm. 2 mm, C.-Oc. 2.

Fig. 12. Bildung der Mikrogameten an dem Mikrogametocyten. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 13a u. b. Mikrogamet, a von der Fläche, b von der Seite. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 14. Die vier Mikrogameten (♂) haben sich von den Mikrogametocyten (mi) losgelöst. Imm. 2 mm, C.-Oc. 2.

Fig. 15. Befruchteter Makrogamet. Imm. 2 mm, C.-Oc. 2; ohne Zeichenapparat. a) Stadium der Befruchtungsspindel. b) Das gleiche Exemplar etwas später; der Kern hat sich an einem Pol zusammengezogen. c) Das gleiche Exemplar; der Kern ist im Begriff, sich zu teilen.

Fig. 16. Sporulation; Pyramidenstadium. Imm. 2 mm, C.-Oc. 2.

Fig. 17. Etwas späteres Stadium. Imm. 2 mm, C.-Oc. 2.

Fig. 18. Der Sporont ist in die einzelnen Sporoblasten zerfallen. Imm. 2 mm, C.-Oc. 2.

Fig. 19. Einzelne, unreife Sporocyste. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 20. Reife Sporocyste. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 21a—c. Herausgepresster Sporozoit; dasselbe Exemplar in verschiedenen Bewegungsstadien. Vergr. etwa 1000, ohne Zeichenapparat gezeichnet.

Tafel XVII u. XVIII.

Nach konservierten Präparaten gezeichnet. Fixierung: Alkohol-Eisessig.

Fig. 22. Schizont in einem Cytophor. T.-Pr. DELAFIELD'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 23. Wie Fig. 22; die erste Kernteilung wird eingeleitet. di S. DELAFIELD'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 24. Schizont nach der ersten Kernteilung. dü S. Boraxkarmin, Hämatoxylin, Kaliummonochromat. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 25—27. Schnitte durch Schizonten, in denen bereits mehrere Kerne vorhanden sind; das Wirtscytophor wurde nicht gezeichnet. dü S. DELAFIELD'sches Hämatoxylin, Eosin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 28. Beginn der Merozoitenbildung. di S. DELAFIELD'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 29. Späteres Stadium der Merozoitenbildung (vgl. Fig. 2). di S. DELAFIELD'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 30. Die einzelnen Merozoiten haben sich voneinander getrennt. (Zwei ganz unten liegende Merozoiten sind auf der Zeichnung nicht sichtbar.) di S. DELAFIELD'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C. Oc. 8.

Fig. 31. Ein junger Merozoit. di S. DELAFIELD'sches Hämatoxylin, Eosin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 32 u. 33. Heranwachsende Merozoiten. Bildung des Binnenkörpers und der Kernmembran. dü S. DELAFIELD'sches Hämatoxylin, Eosin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 34. Zwei heranwachsende Merozoiten in einem Lymphocyten; Makrogamet (?) und Mikrogametocyt (mi) sind bereits unterscheidbar. dü S. DELAFIELD'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 35. Makrogamet (?) und Mikrogametocyt (mi) in einem Lymphocyten (ly), älteres Stadium als Fig. 34. di S. DELAFIELD'sches Hämatoxylin, Eosin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 36. Zahlreiche Makrogameten und Mikrogametocyten in einem Lymphocyten. Die Struktur wurde der Deutlichkeit halber nicht eingezeichnet. T.-Pr. DELAFIELD'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 4.

Fig. 37. Angewachsener Makrogamet (?) mit anliegendem Mikrogametocyt (mi). T.-Pr. DELAFIELD'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 4.

Fig. 38—40. Mikrogametocyten. Imm. 2 mm. C.-Oc. 12.

Fig. 38. Der Mikrogametocyt hat sich abgerundet. di S. Boraxkarmin, Bleu de Lyon.

Fig. 39. Der Kern beginnt sich zu teilen. di S. Boraxkarmin. Bleu de Lyon.

Fig. 40. Die Kernteilung ist fast vollendet. di S. DELAFIELD'sches Hämatoxylin.

Fig. 41. Befruchtungsspindel. dü S. Boraxkarmin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 42. Späteres Stadium derselben. dü S. DELAFIELD'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 43. Die Befruchtungsspindel beginnt sich rückzubilden. di S. Boraxkarmin, Bleu de Lyon. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 44. Etwas späteres Stadium. di S. DELAFIELD'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 45. Erste Kernteilung; die Chromosomen (vgl. Textfig. XI u. XII) sind bereits zurückgebildet. dü S. DELAFIELD'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 46. Die Kernteilung ist fast vollendet. dü S. BORAXKARMIN, DELAFIELD'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 47. Oocyste mit zwei Kernen. T.-Pr. DELAFIELD'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 4.

Fig. 48 a u. b. In Teilung begriffene Kerne während der zweiten Kernteilung in der Oocyste. dü S. BORAXKARMIN, Blen de Lyon. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 49. Ein ruhender Kern aus einer vielkernigen Oocyste. dü S. BORAXKARMIN, Nigrosin, Pikrinsäure. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 50. In Teilung begriffener Kern aus einer etwa 12kernigen Oocyste. dü S. BORAXKARMIN, BLOCHMANN'sche Lösung. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 51 a—c. Letzte Kernteilung an der Oocyste. dü S. DELAFIELD'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 52. Die einzelnen Sporoblasten sondern sich innerhalb der Oocyste. dü S. BORAXKARMIN, Nigrosin, Pikrinsäure. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 53. Wie Fig. 52. dü S. DELAFIELD'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 54. Die Sporoblasten haben sich gesondert. dü S. DELAFIELD'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 55. Wie Fig. 54. T.-Pr. DELAFIELD'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 4.

Fig. 56. Einzelner Sporoblast mit zwei noch im Ruhezustand befindlichen Kernen. dü S. BORAXKARMIN, Nigrosin, Pikrinsäure. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 57. Die zwei Kerne im Sporoblasten schicken sich zur Teilung an. dü S. BORAXKARMIN, Nigrosin, Pikrinsäure. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 58 u. 59. Sporoblasten, deren Kerne in Teilung begriffen sind. dü S. BORAXKARMIN, Nigrosin, Pikrinsäure. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 60. Die Kernteilungen sind soeben vollendet. dü S. BORAXKARMIN, Blen de Lyon. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 61. Die Kerne sind wieder im Ruhezustand. dü S. BORAXKARMIN, Blen de Lyon. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 62. Degenerierte Kernteilung in der Oocyste. dü S. DELAFIELD'sches Hämatoxylin, Eosin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 4.

*Nachdruck verboten.
Übersetzungsgerecht vorbehalten.*

Über ein paar interessante neue Protozoenformen aus dem Atlantischen Ozean und Anderes.

Dritte Mitteilung
über die Tripyleen-Ausbeute der Plankton-Expedition.

Von
A. Borgert (Bonn).

(Hierzu 10 Textfiguren.)

Dem liebenswürdigen Entgegenkommen Prof. K. BRANDT's in Kiel, der mir die ursprünglich zu eigener Untersuchung ausersehenen Tierformen zur Bearbeitung überließ, verdanke ich die Möglichkeit, hier über einige neue Protozoenarten aus den Fängen der Plankton-Expedition berichten zu können. Der Umstand, daß ich erst seit kurzem über das interessante Material verfüge, erklärt, warum die im Folgenden behandelten Organismen, die sich in systematischer Hinsicht einer der bereits von mir bearbeiteten Tripyleen-Familien anschließen, dort nicht schon Berücksichtigung fanden.

Wenn hier auch kein ausführlicher Bericht gegeben werden kann, ein solcher vielmehr den „Ergebnissen der Plankton-Expedition“ vorbehalten bleiben muß, so möchte ich doch nicht darauf verzichten, die Aufmerksamkeit auf die in Rede stehenden merkwürdigen Protozoenformen zu lenken, zu einer Zeit, da noch ein reiches, in den verschiedensten Gegenden der Erde gesammeltes Material sich in Bearbeitung befindet. Auch früheren Meeres-Expeditionen werden die zum Teil ansehnlich großen und nicht allzu seltenen Formen schwerlich entgangen sein, sie fanden jedoch keinen Bearbeiter; vielleicht wußte man sie hinsichtlich ihrer Stellung im Systeme nirgends recht unterzubringen.

Die Formen, um die es sich hier handelt, sind auffallend gestaltete, bald mit kurzen dicken Fortsätzen, bald mit langen dünnen Armen ausgestattete Organismen, die an ihrer Oberfläche von einer deutlichen Membran umkleidet, in ihrem Innern einen großen Kern, umgeben von einer mehr oder minder reichlichen Protoplasamasse, aufweisen. Zu diesen Arten treten andere, die das Aussehen einer einfachen kugeligen oder leicht eiförmigen Blase besitzen, die aber auch noch wieder ein verschiedenes Bild darbieten können.

Bei allen diesen Organismen ist der Protoplasmakörper regelmäßig peripher der Hüllmembran angelagert. Er bezeichnet den oralen Pol des Tieres und bildet hier eine einfach runde oder am Rande in radiäre Strahlen auslaufende Scheibe, die in der verdickten Mitte den großen bläschenförmigen Kern umschließt. Die dünnere Randpartie der Protoplasamasse läßt meistens eine deutliche Vacuolisierung erkennen. Bei einzelnen dieser Formen geht von dem Protoplasmakörper ein derber Verbindungsstrang durch den Hohlraum der Blase nach einer anderen Stelle der Körperwandung, wo er eine strahlige Teilung erfährt und sich schließlich in ein die Innenfläche der Hülle überspinnendes Maschenwerk von feinen Strängen auflöst. Kieselige Skeletbildungen gelangten nur bei einer Art zur Beobachtung.

So sehr auch die in Rede stehenden Formen auf den ersten Blick von den Triplyeen abweichen, wie sie durch R. HERTWIG's und HAECKEL's Arbeiten bekannt geworden sind, so sicher weist uns eine genauere Untersuchung der neuen Formen auf diese Radiolariengruppe hin. Besonders sind es die durch die Plankton-Expedition zuerst erbeuteten eigentümlichen *Atlanticelliden*,¹⁾ zu denen die nächsten Beziehungen bestehen.

Wie bei den *Atlanticelliden*, so handelt es sich auch in dem vorliegenden Falle um Arten mit stark vergrößerter, blasig aufgetriebener und nicht von Skeletbildungen umschlossener Centralkapsel, die auch — von einer Ausnahme abgesehen — an der Stelle, wo der Protoplasmakörper der Membran anliegt, einen kreisförmigen Öffnungshof mit radiärer Streifung aufweist. Diese Bildung ist in denjenigen Fällen, wo der Protoplasmakörper seine normale Lage an der Wandung hat, nicht leicht wahrzunehmen. Sie tritt aber bei Exemplaren, bei denen sich das Protoplasma von der Membran losgelöst hat oder wo es in Zerfall geraten ist, sehr

¹⁾ A. BOBOKET: Die triplyeen Radiolarien der Plankton-Expedition. *Atlanticellidae*. In: Ergebnisse der Plankton-Expedition Bd. III L. h. 3 1905.

deutlich, namentlich nach Anwendung von Farbstoffen, hervor. Die vom Centrum nach der Peripherie hin an Breite zunehmenden radiären Streifen färben sich kräftig wie die Centralkapselmembran im übrigen, wohingegen die Zwischenräume zwischen den Strahlen hell bleiben. Im Centrum des Öffnungshofes oder Strahlendeckels liegt die Hauptöffnung mit der für dies Gebilde des Tripyleenkörpers charakteristischen Protoplasmastruktur.

Während aber bei den Atlanticelliden die Centralkapsel vier runde buckelartige Vorwölbungen besitzt, die im Viereck die in ihrer Mitte gelegene Hauptöffnung umstehen und so der Blase etwa die Form eines Apfels oder einer Tomatenfrucht geben, sehen wir bei den hier neu zu beschreibenden Arten die Centralkapsel entweder in Gestalt einer einfachen Kugel ausgebildet, oder es sind an derselben Aussackungen in wechselnder Zahl entwickelt, die

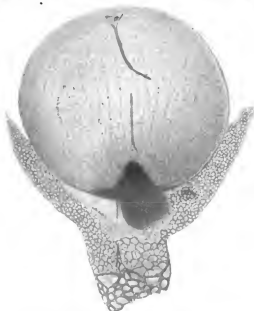


Fig. 1.

Halocella gemma n. g., n. sp. Totalbild (nach einer Zeichnung von Prof. K. BRANDT).
Vergr. Seibert Objektiv I, Okular (periskopisch) 2.

bald als breite taschenartige Ausstülpungen der Membran, bald als dünne hohle armähnliche Fortsätze des Tierkörpers erscheinen.

Daß auch kieselige Skelettbildungen vorhanden sein können, er-

wähnte ich bereits. Diese sind, wie bei *Atlanticella*, dem oralen Pol der Centralkapsel vorgelagert.

In Fig. 1 gebe ich nach einer mir von Herrn Prof. BRANDT gütigst zur Verfügung gestellten Zeichnung die Abbildung einer neuen Art, die sich durch den Besitz eines Kieselskelets auszeichnet. Ich möchte für die neue Gattung, die für diese Form zu begründen ist, den Namen *Halocella* und für die betreffende Species die Bezeichnung *Halocella gemma* in Vorschlag bringen.

Die Centralkapsel ist in diesem Falle kugelig rund. Das Skelet besteht aus einem unregelmäßigen Maschenwerk von Kieselfäden, wie die Abbildung es zeigt, und weicht dadurch ebenfalls nicht unwesentlich von der entsprechenden Bildung bei der Gattung *Atlanticella* ab, wo ein hohler centraler Klöppel entwickelt ist, an dessen Randfortsätzen röhrenartige, mit inneren Scheidewänden versehene Stacheln entspringen. So erinnert es denn mehr an die Skeletbildungen gewisser Cyrtoiden oder Spyroiden unter den Nasselarien. Eine Übereinstimmung mit den *Atlanticellen* besteht dagegen in dem Vorhandensein einer einzigen oralen Öffnung in der Centralkapselmembran, wie sie sich in ähnlicher Gestaltung bei der Mehrzahl der Triplyleen findet. Auch das Phäodium fehlt als weiterer charakteristischer Bestandteil nicht.

Bei den Formen mit breiten Aussackungen fanden sich dagegen Skeletbildungen nirgends entwickelt. Da in der Zahl und Anordnung der Membranausstülpungen wechselnde Verhältnisse bestehen, so zeigen diese Organismen je nach deren Ausbildung ein ziemlich verschiedenes Aussehen. Ich beschränke mich hier darauf, in Fig. 2 ein dreizipfeliges Tier abzubilden. Fig. 3 zeigt außerdem noch den oralen Strahlendeckel der Hauptöffnung eines anderen Exemplars. Die centrale dunkle Masse wird von den protoplasmatischen Resten der Astropyle gebildet. Die Gattung, zu der ich diese Formen stelle, mag den Namen *Lobocella* führen.

Da ich nicht glaube annehmen zu sollen, daß die verschiedenen Formen alle selbständige Species darstellen, so fasse ich dieselben unter dem gemeinsamen Artnamen *Lobocella proteus* zusammen und unterscheide nach der Zahl der Fortsätze in den einzelnen Fällen durch Zufügung der Bezeichnung: *forma biloba*, *triloba* usw.

Was die Strukturverhältnisse des Weichkörpers betrifft, so möchte ich auf die in der Zeichnung Fig. 2 möglichst genau wiedergegebene Verteilung des Protoplasmas hinweisen. Wir sehen von der aboralen Fläche der scheibenartig abgeflachten Hauptmasse einen dicken Stamm entspringen, der, nach einem anderen Punkt

der Oberfläche gerichtet, sich an der Hüllmembran fontänenartig in einen Kranz feinerer Stränge auflöst. Ein Teil dieser Protoplasmaströme kehrt auf dem nächsten Wege als dicke Adern zum Rande

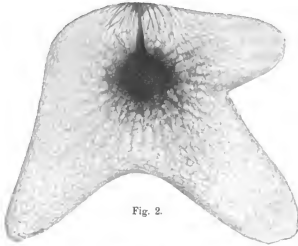


Fig. 2.



Fig. 3.

Fig. 2 u. 3. *Lobocella proteus* n. g., n. sp.

Fig. 2. Dreizipfeliges Exemplar, von der aboralen Seite gesehen. Vergr. 40fach.
 Fig. 3. Strahlendeckel eines siebenzipfeligen Individuums. Die Membran stark mit Hämatoxylin gefärbt. In der Mitte ein Rest des protoplasmatischen Teiles der Hauptöffnung. Vergr. 100fach.

der Protoplasmascheibe zurück, die übrigen lösen sich dagegen in ein feines unregelmäßiges Maschenwerk auf, das sich auf der Innenfläche der Hüllmembran ausbreitet und sich schließlich in den radiären sich verzweigenden Ausläufern der Protoplasmascheibe wieder sammelt.

Mit einiger Wahrscheinlichkeit ist wohl anzunehmen, daß die geschilderten Strukturen der Ausdruck einer bei dem lebenden Tiere bestehenden kreisenden Protoplasmaströmung sind, die, von der Hauptmasse ausgehend und wieder zu ihr zurückkehrend, entweder den vorstehend skizzierten Weg nimmt, oder im umgekehrten Verlauf ihren Ursprung in den radiären Ausläufern des Protoplasmakörpers besitzt, aus deren feinen Verästelungen sich der Strom schließlich von allen Seiten her in dem dicken, eine deutliche Längsfaserung zeigenden Hauptstamm auf der aboralen Seite der Protoplasmascheibe wieder vereinigt.

Die ganze Art der Protoplasmaverteilung erinnert stark an das Bild, das sich in dieser Beziehung bei den Cystoflagellaten, *Noctiluca* und *Leptodiscus*, darbietet, bei denen ebenfalls die Hauptmasse des Protoplasmas um den nahe der Körperwand gelegenen Kern konzentriert ist, während sich im übrigen ein peripheres feines Netzwerk von Protoplasmafäden ausgebildet findet. Auch hinsichtlich des Vorhandenseins eines von der Hauptmasse nach der Hüllmembran gehenden dickeren Protoplasmastranges von faseriger Struktur würden Anklänge bestehen. Andererseits gemahnen die Organisationsverhältnisse an das Bild, das sich bei den Arten der Gattung *Pyrocystis* darbietet.

Erwähnt sei übrigens noch, daß in den strahligen Fortsätzen der Protoplasmascheibe bei *Lobocella* meistens deutlich ein hyaliner fester Achsenfaden zu erkennen war.

Für die dritte Gruppe von Formen ist, wie schon hervorgehoben wurde, die Ausbildung langer horn- oder armartiger Fortsätze charakteristisch. Auch hier unterliegt die Zahl der betreffenden Bildungen dem Wechsel. In Fig. 4 habe ich nach einer von Herrn Prof. BRANDT mit dem Zeichenapparat entworfenen Umrisskizze ein Exemplar mit nur zwei Fortsätzen wiedergegeben. Die von mir selbst untersuchten Stücke hatten alle eine größere Zahl von Armen. Fig. 5 zeigt ein anderes Individuum mit sechs Fortsätzen, die hier jedoch nicht in ihrer vollen Länge zur Darstellung gebracht sind. Die Membran weist eine Unmenge kleiner Falten und Fältchen auf, wie bei fast allen mir vorliegenden konservierten Stücken. In der oberen Hälfte der Figur sieht man den großen runden Strahlendeckel der Hauptöffnung.

Der Weichkörper, der bei dem in Fig. 5 dargestellten Exemplar in Zerfall geraten war und in der Zeichnung fortgelassen ist, zeigt



Fig. 4.

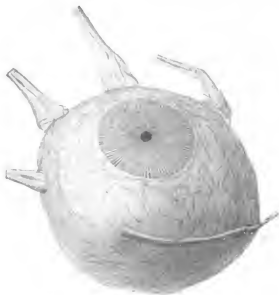


Fig. 5.

Fig. 4 u. 5. *Cornucella maya* n. g., n. sp.

Fig. 4. Zweihörniges Exemplar von der aboralen Seite gesehen (nach einer mit Seibert's Objektiv I gezeichneten Umrißskizze von Prof. K. BRANDT), auf $\frac{1}{4}$ verkleinert.

Fig. 5. Ein Individuum mit sechs Körperfortsätzen, unter Fortlassung der in Zerfall geratenen protoplasmatischen Teile gezeichnet. In der oberen Hälfte der

Figur der große runde Strahlendeckel. Vergr. 30fach.

im wesentlichen den gleichen Bau wie bei der Gattung *Lobocella*. Wir sehen auch bei diesen Formen einen kräftigen Strang auf der aboralen Seite der in radiäre Strahlen sich fortsetzenden Protoplasmascheibe entwickelt, dessen äußeres Ende an der Membran nach allen Seiten hin dünnere Ausläufer entsendet.¹⁾ Fig. 4 zeigt in der nach rechts weisenden Spitze diese Bildung in unvollständigem Erhaltungszustand.

Ich vereinige die in Rede stehenden Formen in der neuen Gattung *Cornucella*. Hinsichtlich der näheren Benennung verfähre ich wie bei dem Genus *Lobocella*. Als einzige Art führe ich die Species *Cornucella maya* auf und unterscheide bei dieser eine *forma bicornis*, *tricornis* usw.²⁾

Wie bei den Gattungen *Halocella* und *Lobocella* ist auch bei dem Genus *Cornucella* nur eine einzige Hauptöffnung oder Astropyle mit radiär gestreiftem Öffnungshof vorhanden, wie dies schon aus Fig. 5 ersichtlich ist.

Zu den ersterwähnten Formen mit kugeligem Centralkapsel kommen nun noch andere hinzu, die, einerseits eines Skelets entbehrend, sich von der Gattung *Halocella* außerdem auch noch durch das Vorhandensein einer größeren Zahl von Öffnungen in der Kapselmembran unterscheiden. In dieser Beziehung bestehen ganz ähnliche Verhältnisse wie bei der Gattung *Natonaletta*,³⁾ und es läge wohl der Gedanke nahe, daß die aufgefundenen Blasen dieser Art nur die isolierten Centralkapseln von *Natonaletta fragilis* oder einer anderen nahe verwandten Form darstellen.

¹⁾ Nach der von *Halocella* vorliegenden BRANDT'schen Abbildung scheint es, daß auch bei dieser Gattung ganz ähnliche Strukturverhältnisse des Weichkörpers bestehen. Die Figur läßt einen von der Wölbung des Protoplasmakörpers nach der gegenüberliegenden Seite der Centralkapsel verlaufenden, bei dem gezeichneten Exemplar zerrissenen Strang und außerdem eine netzartige Felderung der Blasenwandung erkennen, die in diesem Falle jedoch viel feiner als beispielsweise bei *Lobocella* ist.

²⁾ Vereinzelt schien es mir allerdings, als ob „gezipfelte“ Formen durch stärkeres Längenwachstum der Fortsätze in „gebürnte“ übergehen könnten. Auch möge bei dieser Gelegenheit auf die schon in der Bearbeitung der *Atlanticella*-Arten betonte Möglichkeit hingewiesen sein, daß es sich bei den hier neu beschriebenen eigenartigen Protozoen nur um Entwicklungsstadien irgend welcher anderen Formen handelt.

³⁾ Vgl. A. BORGERT: Die tripyleen Radiolarien der Plankton-Expedition. *Medusettidae*. In: Ergebnisse der Plankton-Expedition. Bd. III L. h. 4 1906.

Desgl. V. HAECKER: Über einige große Tiefsee-Radiolarien. Siebente Mitteilung über die Radiolarien der „Valdivia“-Ansichte. In: Zool. Anz. Bd. XXX Nr. 26 1906.

Dennoch scheinen mir Gründe für die Annahme zu bestehen, daß es sich hier um eine besondere Art oder wahrscheinlicher sogar eine eigene Gattung handelt.

Die in Rede stehenden Organismen bieten das Bild einer knigeligen Blase, die an einer Seite, der Membran angelagert, einen scheibenartigen, am Rande dünn auslaufenden, in der Mitte verdickten Protoplasmakörper aufweist. Das Protoplasma ist vacuolisiert und umschließt einen voluminösen runden Kern, dessen Vorhandensein sich durch eine Vorwölbung des Protoplasmas in das Innere der Kugel schon bei flüchtiger Betrachtung bemerkbar macht. In Fig. 6 habe ich ein Exemplar, vom aboralen Pole gesehen, zur Darstellung gebracht.



Fig. 6.

Globicella pila n. g., n. sp. vom aboralen Pol gesehen. Vergr. 60fach.

Am Rande der Scheibe sieht man gelegentlich das Protoplasma in feine Stränge auslaufen, die sich in Reihen von Körnchen auflösen. Durch diese erscheint meist die ganze Wandung der Blase unregelmäßig punktiert. Zwischen den kleinen Körnchen gewahrt man vielfach noch größere rundliche Klümpchen, die dann gewöhnlich zu Strängen angeordnet und durch feine Fäden mit einander verbunden sind. In einem Falle sah ich einen vollständig geschlossenen derartigen Ring im Äquator der Kugel ausgebildet. Offenbar handelt es sich auch in diesem Falle um die Teile eines peripheren Protoplasmanetzes.

An der oralen, durch die Protoplasmascheibe gekennzeichneten Seite der Blase finden sich eine größere Anzahl nach dem Astropylen-

typus gebaute Öffnungen, durch die das Kapselinnere mit der Außenwelt kommuniziert. Die breit kegel- oder buckelförmig gestalteten, ein wenig über die Oberfläche hervortretenden Öffnungen sind ziemlich gleichmäßig über die gewölbte Fläche im Gebiete der Protoplasmascheibe verteilt, wie dies aus dem in Fig. 8 abgebildeten Tangentialschnitt durch die orale Partie einer solchen Blase gut ersichtlich ist. Ein medianer Längsschnitt durch den kugeligen Tierkörper ist in Fig. 7 wiedergegeben; auch in diesem Falle sind mehrere Öffnungen durch den Schnitt getroffen. Derselbe läßt ferner erkennen, daß der Hohlraum der Blase über der Protoplasmascheibe keine weiteren Bildungen umschließt; vermutlich ist er bei dem lebenden Tier mit einer Flüssigkeit erfüllt.



Fig. 7.

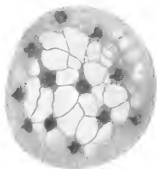


Fig. 8.

Fig. 7 u. 8. *Globicella pila* n. g., n. sp.

Fig. 7. Medianer Längsschnitt, mehrere Öffnungen getroffen. Vergr. 60 fach.

Fig. 8. Tangentialer Schnitt vom oralen Pol, mit einer größeren Zahl von Öffnungen. Vergr. 170 fach.

Über den Kern kann ich nur soviel sagen, daß er den bei *Atlanticella* und anderen Tripyleen beobachteten Bau zeigt, wie dies auch Fig. 7 zeigt.

Was nun noch die äußere Hülle betrifft, die die Wandung der Blase bildet, so ist die Membran einschichtig.

Zum Unterschied füge ich aus dem Material, das mir Herr Dr. FOWLER freundlichst zur Verfügung stellte, auch einen medianen Längsschnitt durch die Centralkapsel von *Natonaletta fragilis* bei (Fig. 9).

schon früher geäußert und werde weiter unten Gelegenheit nehmen, noch einmal auf den Gegenstand zurückzukommen.

Bezüglich der Öffnungen in der Kapselmembran haben die neueren Untersuchungen gezeigt, daß bei den Tripyleen eine weit größere Mannigfaltigkeit besteht, als die älteren Forschungen vermuten ließen. Nicht nur sehen wir die Parapylen hier und da ganz in Wegfall kommen, sondern wir beobachten andererseits auch, wie dieselben gelegentlich ihre typische Lage an der aboralen Seite der Centralkapsel aufgeben und in die Nähe der Hauptöffnung auf die orale Hälfte der Centralkapsel hinübertreten. Ein solches Verhalten glaube ich beispielsweise bei der Gattung *Gazelletta* nachgewiesen zu haben.¹⁾ Fig. 10 zeigt hier die beiden Nebenöffnungen am Rande der oralen Fläche, wo diese sich nach der aboralen Seite umwölbt, an einander

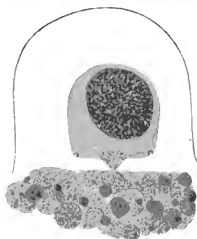


Fig. 10.

Gazelletta sp. Centralkapsel und Phäodium. Die Lage der Schale ist durch eine einfache Linie angedeutet. Vergr. 500fach.

entgegengesetzten Seiten neben der kegelförmigen Hauptöffnung. Allerdings habe ich nur einen derartigen Fall beobachtet, in welchem die Centralkapsel zufällig eine günstige Lage für die Beobachtung hatte. Da aber Vacuolen sonst nicht zu sehen waren

¹⁾ Vgl. A. BORGERT: *Medusellidae* p. 140.

und nur mit diesen eine Verwechslung möglich erschien, so halte ich bei der gleichen Größe und der vollkommen symmetrischen Lage der Bildungen unmittelbar an der Peripherie der Centralkapsel einen Irrtum nicht für wahrscheinlich. Immerhin wäre noch eine Nachprüfung der Frage an Schnittpräparaten, die mir leider wegen Mangels an geeignetem Untersuchungsmaterial nicht möglich war, sehr erwünscht.

Daß ferner eine Verdoppelung der Hauptöffnungen vorkommen kann, wies V. HAECKER¹⁾ an *Challengeria naresi* J. MURRAY nach, bei der zwei symmetrisch gelegene, weit auseinander gerückte Astropylen an der oralen Seite der Centralkapsel entwickelt sind, während die beiden Parapylen ihre Lage an der aboralen Fläche bewahrt haben, aber relativ dicht zusammengelagert erscheinen.

Wesentlich weiter getrieben ist die Vermehrung der Astropylen bei den Gattungen *Planktonetta* und *Nationaletta*, die in dieser Beziehung untereinander ganz ähnliche Verhältnisse zeigen,²⁾ ebenso auch bei dem neuen Genus *Globicella*. Hier ist die orale Fläche der Centralkapsel, soweit (an konservierten Exemplaren) die dichte Protoplasmaansammlung zum Kern reicht, mit zahlreichen Öffnungen besetzt, die den Bau kleiner Astropylen besitzen. Fig. 7 zeigt die Verteilung der Öffnungen an einem medianen Längsschnitt durch eine *Globicella*. In Fig. 8 sind eine Anzahl Öffnungen an einem tangentialen Schnitt vom oralen Pol in der Flächenansicht dargestellt.

Bei keiner der letztgenannten Formen wurden außerdem noch besondere Nebenöffnungen gefunden.

Was die Unterbringung der neuen Gattungen im System der Tripyleen betrifft, so kann ich mich hier wohl im wesentlichen auf das Gesagte beschränken, dagegen veranlassen mich die Ausführungen V. HAECKER's in seiner siebenten Mitteilung über die Radiolarien der „Valdivia“-Ausbeute noch einmal etwas näher auf die Frage nach der systematischen Stellung der Familie der *Atlanticellidae* einzugehen.

V. HAECKER ist der Ansicht, daß es nicht angebracht sei, die

¹⁾ V. HAECKER: Zur Kenntnis der Challengeriden. Vierte Mitteilung über die Tripyleen-Ausbeute der deutschen Tiefsee-Expedition. In: Arch. f. Protistenk. Bd. VII 1906.

²⁾ Vgl. A. BOBORT: *Medusettidae* p. 140 ff. und V. HAECKER: Siebente Mitteilung p. 891 ff.

Zwang geschehen können, und gerade auf das charakteristischste Merkmal der Medusettiden müßten wir verzichten.

Da wäre es vielleicht noch natürlicher, von den kleinen, einfacher organisierten Medusettidenformen aus, wie sie die Gattungen *Euphysetta* und *Medusetta* aufweisen, die Reihe durch den Anschluß der Challengeriden in dieser Richtung weiter fortzuführen. Jedenfalls wäre nach der letzteren Seite hin ein Übergang mindestens ebenso leicht und einfach zu finden, wie zu den abweichenden Atlanticelliden, mit denen V. HAECKER diese Formen in einer Familie vereinigt sehen will.

Schon die Form des Skelets ist bei den Euphysetten und manchen Medusetten so ähnlich derjenigen der Challengeriden, daß tatsächlich mehrfach bereits Medusettiden als Challengeriden in der Literatur aufgeführt worden sind. Dazu kommt die Übereinstimmung in der Anbildung des Weichkörpers, die Ähnlichkeit in Gestalt und Bau der Centralkapsel und ihre Lage im aboralen Teile der Schale, dann die gleiche Anspeicherung des Phäodins im oralen Abschnitt des Skelethohlraumes. Die Verschiedenheit in der Schalenstruktur wäre gering, auf jeden Fall viel geringer, als sie unter gewissen Angehörigen der Familie der Medusettiden ist; und, wollte man noch weiter gehen, so könnte man in der Ausbildung von Scheidewänden in dem Stachelhohlraum mancher Challengeriden auch noch Anklänge an die Kammerung der Medusettidenstacheln erblicken.

Natürlich ist es nicht meine Absicht, eine Vereinigung der beiden Familien befürworten zu wollen, denn die Challengeriden bilden in der Tat eine viel zu wohl charakterisierte, in sich abgeschlossene Gruppe unter den Tripyleen, als daß es angezeigt erscheinen könnte, sie mit der einen oder anderen Abteilung zu verschmelzen. Aber ich würde es für ebensowenig richtig halten, die Atlanticelliden mit den Euphysetten und Medusetten in eine und dieselbe Familie zu stellen.

Und nun kommen noch die oben beschriebenen neuen Formen hinzu, die zweifellos mit den Atlanticelliden nahe verwandt und deswegen von mir bei diesen untergebracht, keinerlei Berührungspunkte mit den typischen Vertretern der Medusettidenfamilie zeigen.

Im Hinblick auf diese neuen Gattungen scheint mir, soweit ich nach meinem Material urteilen kann, die von HAECKER vorgeschlagene Vereinigung der beiden Familien der Atlanticelliden und Medusettiden besonders nützlich. Ich halte es deswegen auch für richtiger, hier weiterhin eine Trennung bestehen zu lassen.

Zum Schluß noch einige Worte über das Genus *Natonaletta*.

Nach V. HAECKER's Ansicht ist FOWLER's *Gazelletta fragilis*¹⁾ nicht identisch mit der von mir beschriebenen *Natonaletta fragilis*,²⁾ vielmehr soll die mit dem ersteren Namen belegte Art nach HAECKER mit *Planktonetta atlantica* nahe verwandt und demnach dieser Gattung einzureihen sein. HAECKER weist dabei auf das Vorhandensein des Porenkranzes an der Basis der Schalenwölbung bei FOWLER's *Gazelletta fragilis* hin, und weiter erwähnt er, daß er in einem Falle auch ein typisches „Floß“ entwickelt fand.

Zu dieser Frage möchte ich bemerken, daß ich in Übereinstimmung mit FOWLER die beiden Species für identisch halte, wie dies auch aus meiner Bearbeitung der Medusettiden ersichtlich ist. Unter dieser Voraussetzung, daß nämlich FOWLER eine schon früher von mir³⁾ aus dem Material der Plankton-Expedition als *Gazelletta fragilis* beschriebene Form vorgelegen habe, gab ich dem neuen Genus nachträglich, als ich mich von der Notwendigkeit einer Trennung überzeugt sah, den Namen *Natonaletta*.

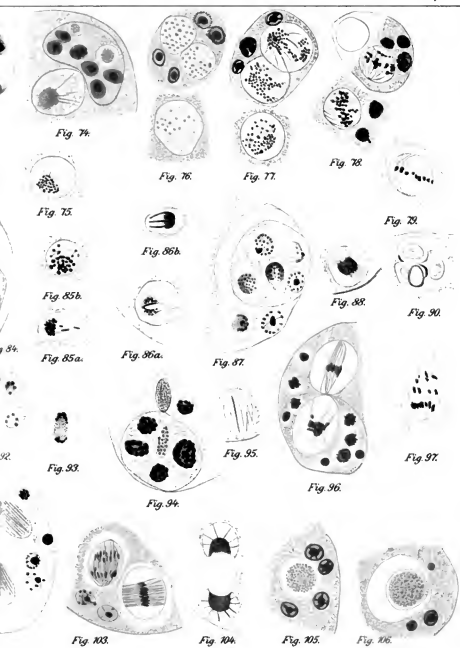
Aus verschiedenen Gründen glaube ich, daß in dem vorliegenden Falle wirklich Identität der Arten besteht. Auch FOWLER sah bei seinen Exemplaren einen Kranz von Poren an der Basis der Schalenwölbung, und demnach würde in dieser Beziehung keine Abweichung, wie HAECKER meint, bestehen.⁴⁾ Dazu kommt, daß ich bei den mir vorliegenden Stücken die Schale stets allein mit Phäodellen angefüllt fand, und daß es mir nie gelang, eine Centralkapsel in dem Hohlraum aufzufinden. Dies brachte mich auf die Vermutung, daß sich bei meinen Exemplaren überall ein Teil des Tieres abgetrennt habe, der diesen wichtigsten Bestandteil des Weichkörpers umschloß, und so schien mir FOWLER's Beobachtung, daß bei vollständigen Exemplaren eine den Kern umschließende Blase dem Skelet lose angefügt sei, die gesuchte Aufklärung zu bringen. Es müßte auch überraschen, wenn FOWLER's Art nicht ebenfalls von der Plankton-Expedition erbeutet sein sollte; allerdings wäre es ebenso merkwürdig, wenn —

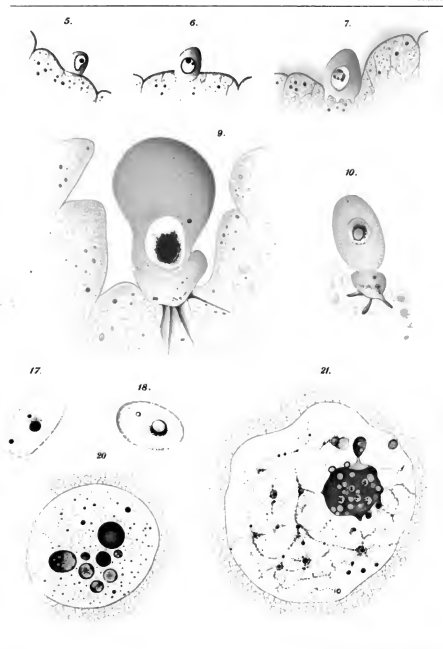
¹⁾ Vgl. G. H. FOWLER: Notes on the anatomy of *Gazelletta*. In: Quarterly Journal of Microscopical Science Vol. 48 Part III 1904.

²⁾ A. BORGH: *Medusettidae* p. 160.

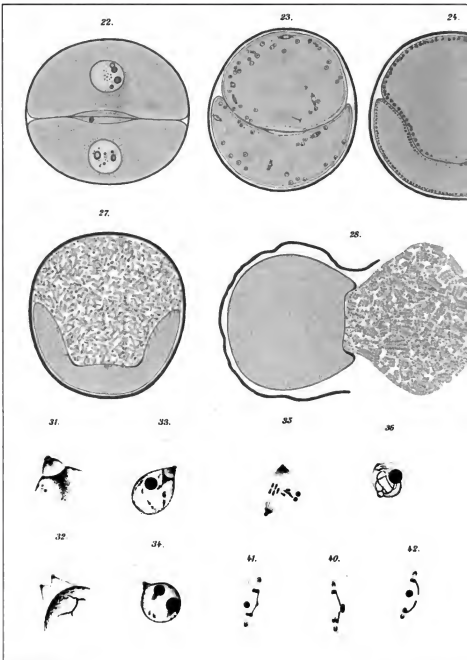
³⁾ A. BORGH: Mitteilungen über die Tripyleen-Ansbeute der Plankton-Expedition. I. Neue *Medusettidae*, *Circoporidae* und *Tuscaroridae*. In: Zool. Jahrb. Bd. 16 Syst. 1902.

⁴⁾ An den mir von Herrn Dr. FOWLER freundlichst zur Verfügung gestellten Exemplaren konnte ich leider diesen Punkt nicht aufklären, da die Gehäuse dicht mit Phäodinen erfüllt waren und Einzelheiten des Schalenbanes sich nicht erkennen ließen.



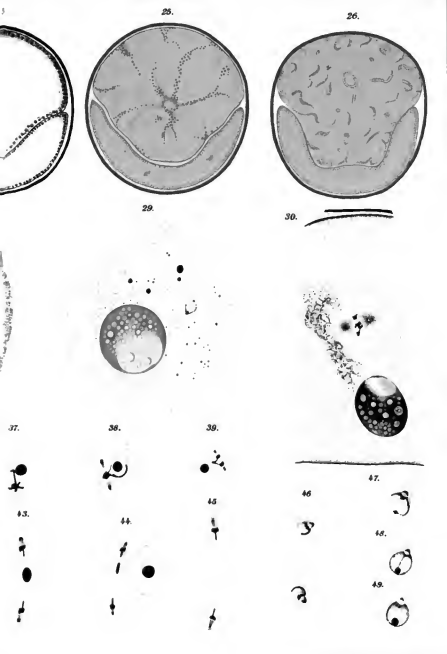


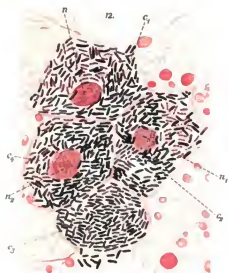
Verf. Dr. G. v. Sars, Kopenhagen

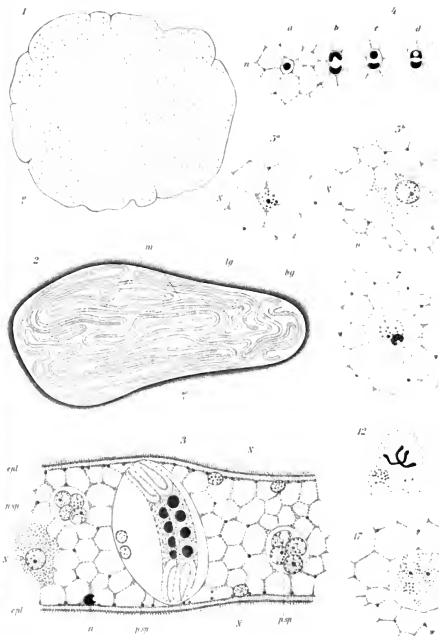


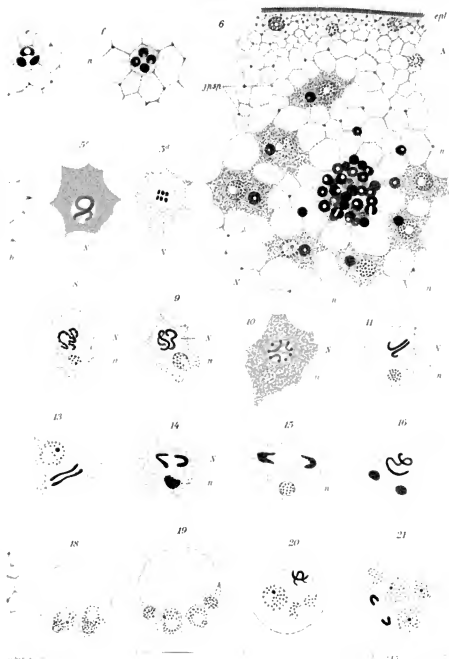
Schellack gez.

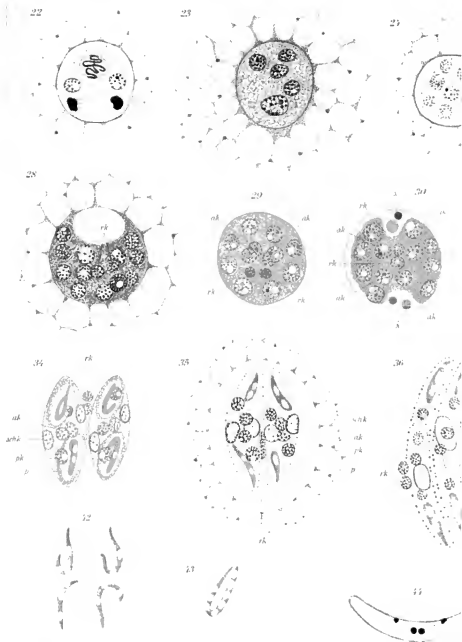
Verf. v. Gustav Fie...

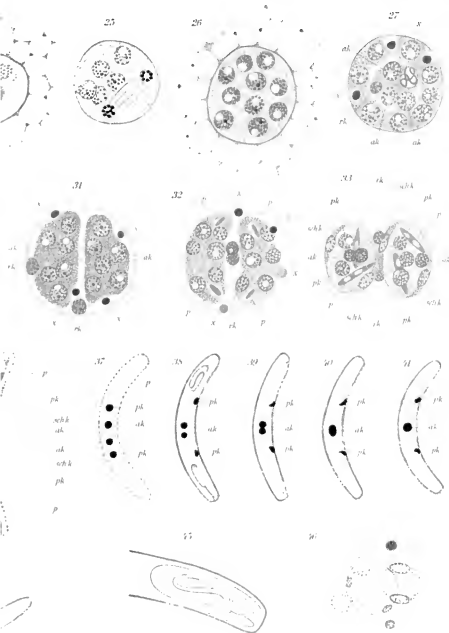


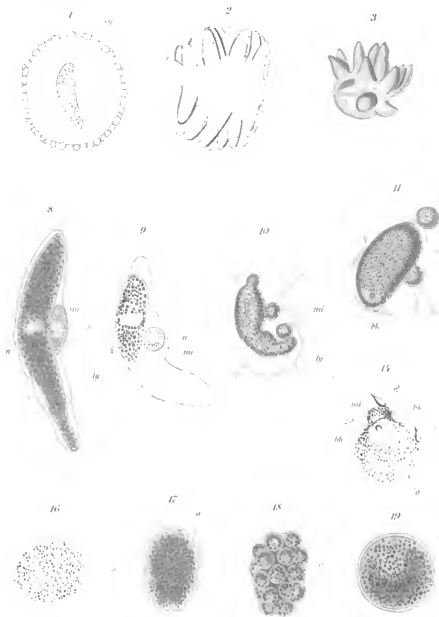


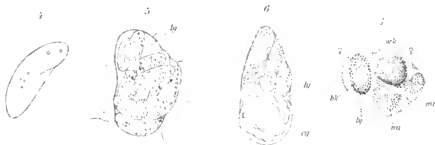


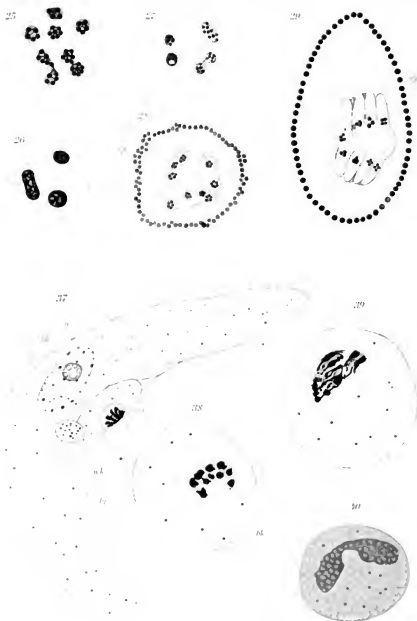












31



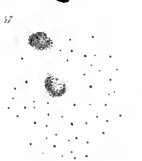
32



33



37



38^a



38^b



39^a



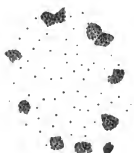
39^b



39^c



39^d



39



39

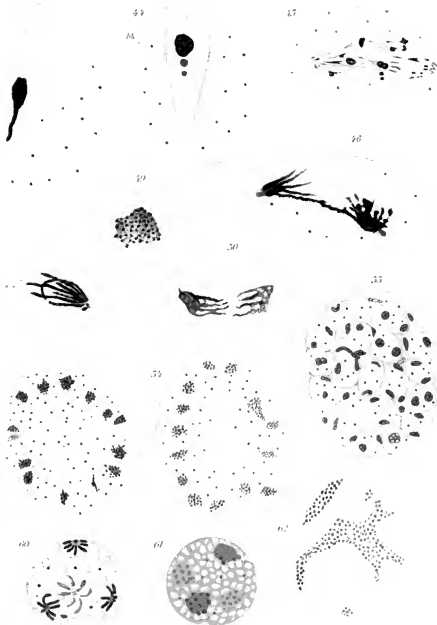


39



39





Archiv

für

Protistenkunde

begründet von

Dr. Fritz Schaudinn,

herausgegeben

von

Dr. M. Hartmann

Berlin.

und

Dr. S. von Prowazek

Hamburg.

Supplement I.

Festband zum 25jährigen Professoren-Jubiläum des Herrn Geheimen
Hofrat Professor Dr. Richard Hertwig.

Mit 19 Tafeln und 56 Textfiguren.



JENA.

Verlag von Gustav Fischer.

1907.

Festband
zum
25jährigen Professoren-Jubiläum
des
Herrn Geheimen Hofrat
Prof. Dr. Richard Hertwig
in
München.

Mit 19 Tafeln und 56 Textfiguren.



JENA.
Verlag von Gustav Fischer.
1907.

~~~~~  
**Alle Rechte vorbehalten.**  
~~~~~

Ihrem lieben Lehrer

RICHARD HERTWIG

widmen diese während des

25^{ten} Jahres

seiner Lehrtätigkeit als Professor der Zoologie in seinem Institut
entstandenen Protozoenarbeiten.

Seine dankbaren Schüler.

Inhaltsübersicht.

	Seite
NERESHEIMER, EUOEN: Die Fortpflanzung der Opalinen. (Mit Tafel I—III und 2 Textfiguren)	1
POPOFF, METHOD: Depression der Protozoenzelle und der Geschlechtszellen der Metazoen. (Mit Tafel IV und 5 Textfiguren)	43
GOLDSCHMIDT, RICHARD: Lebensgeschichte der Mastigamöben <i>Mastigella vitrea</i> n. sp. und <i>Mastigina setosa</i> n. sp. (Mit Tafel V—IX und 20 Textfiguren)	83
WENYON, C. M.: Observations on the Protozoa in the Intestine of Mice. (Mit Tafel X—XII und 1 Textfigur)	169
KUSCHAKEWITSCH, SERGIUS: Beobachtungen über vegetative, degenerative und germinative Vorgänge bei den Gregarinen des Mehlwurmdarms. (Mit Tafel XIII—XVI und 12 Textfiguren)	202
DOFLEIN, F.: Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. V. Amöbenstudien. (Mit Tafel XVII—XIX und 16 Textfiguren)	250

•

*Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

Die Fortpflanzung der Opalinen.

Von

Dr. Eugen Neresheimer,

Privatdozent an der kgl. technischen Hochschule
und Assistent an der kgl. biol. Versuchsstation für Fischerei in München.

(Hierzu Tafel I—III und 2 Textfiguren.)

Nachdem ich in meiner vorläufigen Mitteilung¹⁾ mich weitläufiger über die Sonderstellung ausgesprochen habe, die die Opalinen bisher unter den Ciliaten eingenommen haben, auch ohne daß man ihre vollständige Entwicklungsgeschichte kannte, habe ich zunächst auf die Morphologie dieser Tiere einzugehen. Auch hier kann ich mich kurz fassen, da bereits mehrere Untersuchungen über diesen Punkt vorliegen. Im ganzen kann ich mich der ausgezeichneten Darstellung H. N. MAIER's (1902) ganz anschließen. Nur in einem Punkte möchte ich seine Angaben ergänzen. S. 81 leugnet MAIER die Richtigkeit der von TÖNNIGES (1898) gegebenen Textfigur, auf der die Corticalschicht des Ektoplasmas als sehr grobvakuolär im Gegensatz zu dem feinwabigen Entoplasma dargestellt ist. MAIER fand auch „das Corticalplasma stets ebenso feinwabig gebaut, wie das Endoplasma, und von diesem lediglich durch den Mangel an Inhaltskörpern unterschieden.“ Ich fand im Gegensatz hierzu in vielen Präparaten Opalinen, die genau dem von TÖNNIGES gegebenen Schema entsprachen; allerdings nur in gewissen mit der Fortpflanzung zusammenhängenden Stadien, die MAIER wohl nicht vorgelegen haben. Ich werde darauf noch zurückkommen. In neuerer

¹⁾ „Der Zeugungskreis von Opalina.“ Sitzungsber. d. Gesellsch. f. Morphol. u. Physiol. in München 1906.

Zeit sind von zwei Seiten Angaben über die feinere Struktur des Opalinplasmas gemacht worden, die ich aber beide als durchaus haltlos zurückweisen muß. KUNSTLER und GINESTE (1902) beschreiben für *O. dimidiata* [STEIN] drei Schichten von Protoplasma, die aus in eine Grundsubstanz eingelagerten Alveolen („vésicules, formations vésiculaires“) bestehen, die in der Außenschicht am größten, in der innersten („axialen“) Schicht am feinsten sein sollen. In jeder dieser Alveolen wollen die genannten Autoren ein centrales Korn festgestellt haben, das durch radiär verlaufende Fäden mit der Wand der Wabe verbunden ist. Auf den beigegebenen Photographen, die diese Verhältnisse deutlich zeigen sollen, ist aber gar nichts zu sehen. Ebenfalls sehr merkwürdige Angaben macht K. C. SCHNEIDER (1905). Er will bei *O. ranarum* mit Eisenhämatoxylin schwärzbare Fäden nachgewiesen haben, die als Fortsätze der Cilien in das Entoplasma eindringen, sich hier zu mehreren vereinigen und als Stützfasern die ganze Zelle durchsetzen. An ihnen sollen die Kerne und die „scheibenförmigen Körperchen“ ZELLER's befestigt sein. (!) Wie gesagt, konnte ich mich von der Richtigkeit dieser Angaben in keinem Falle überzeugen und halte an der Darstellung MAIER's fest.

Auf die von ZELLER (1877) entdeckten und von TOENNIGES (1898) näher beschriebenen Plasmaeinschlüsse werde ich noch später einzugehen haben.

Historisches über die Fortpflanzung der Opalinen.

Die ersten ¹⁾ der spärlichen Angaben über die Fortpflanzung der in Rede stehenden Parasiten verdanken wir ENGELMANN (1876). ENGELMANN war zuerst auf die Idee gekommen, daß die Infektion erwachsener Frösche mit Opalina unwahrscheinlich sei, und untersuchte deshalb den Darminhalt der Kaulquappen. Bei diesen fand er runde, einkernige Cysten, sowie frisch ausgeschlüpfte, noch einkernige Tiere; ferner bemerkte er die Teilung dieses Kernes und verfolgte

¹⁾ Nachträglich fand ich noch als die wirklich erste Angabe die treffliche Beobachtung KÖLLIKER's (1864), die bisher nirgends erwähnt ist. Es heißt da (p. 24): „Zum Schluß endlich erwähne ich noch die Opalinen, die manche zu den Infusorien zählen. *O. ranarum*, die ich genau untersucht habe, enthält in ihrem Parenchyme viele durch Essigsäure leicht sichtbar zu machende echte Zellkerne, dagegen keine kontraktile Räume und sonst nichts, was auf ein Infusorium hinwiese. Ferner entwickelt sich dieselbe aus kleinen, in einer Hülle eingeschlossenen, ebenfalls schon mit mehrfachen Kernen versehenen Körpern, die Eiern ähnlich sehen.“

das Wachstum und Vielkernigwerden der jungen Tiere. Diese durchaus richtigen Beobachtungen machte er an *O. dimidiata* aus *Rana esculenta* (von ihm irrtümlich für *O. ranarum* gehalten). Jedoch konnte er über die Herkunft der Cysten nichts ermitteln. An diese Entdeckung knüpfte ZELLER (1877) an, in dessen hervorragender Abhandlung fast alle Tatsachen mitgeteilt sind, die nach dem damaligen Stande der Technik (ohne Färbung) überhaupt ermittelt werden konnten. Er verfolgte die sukzessive Längs- und Querteilung, durch die sich die großen Tiere zu Beginn des Frühjahrs rasch vermehren, bis sie schließlich in sehr viele kleine, 2 bis 12kernige Individuen zerfallen sind, die sich nun, noch im Mastdarm des alten Frosches, encystieren. Diese Cysten werden von den zur Copulation ins Wasser gegangenen Fröschen mit den Fäkalien entleert und von den Froschlarven wieder aufgenommen. Im Mastdarm dieser infizierten Kanquappen fand ZELLER, wie er meinte, die Cysten wieder, jedoch, übereinstimmend mit der früheren Angabe ENGELMANN'S, nunmehr einkernig. Im folgenden konnte er das Ausschlüpfen und Wachsen der Tierchen ganz in Übereinstimmung mit ENGELMANN'S Befunden verfolgen. (Für *O. obtrigona* [STEIN], *O. dimidiata* [STEIN], *O. intestinalis* [STEIN] (*similis* ZELLER) und *O. caudata* [ZELLER] stellte dieser Forscher einen im wesentlichen gleichen Entwicklungsgang fest, wie den eben für *O. ranarum* beschrieben; nur daß bei den letztgenannten beiden Arten die Cysten schon von Anfang an, oder wie wir nun richtiger sagen müssen, schon die Infektionscysten, einkernig sind.) Es war ZELLER aufgefallen, daß die in Mehrzahl vorhandenen Kerne der vor der Encystierung stehenden oder schon encystierten Tiere bedeutend kleiner waren als die Kerne großer Opalinen sowie der später vorhandene einzige Kern der in der Kanquappe gefundenen Cyste. Wie aber der Zustand der Einkernigkeit aus der ursprünglichen Vielkernigkeit hervorgehen sollte, konnte er nicht entscheiden; doch hielt er Auflösung der ursprünglichen Kerne und Neubildung aus dem vereinigten Material für wahrscheinlicher als direkte Verschmelzung.

Diese Lücke schien später (1899) TÖNNIGES auszufüllen mit der lakonischen Bemerkung, daß die Kerne „unter sehr bemerkenswerten Erscheinungen“ verschmelzen. Zugleich gab er ebenso kurz an, daß die einkernigen Individuen nach dem Verlassen der Cysten-hülle im Kaulquappendarm konjugieren und sich darauf lebhaft vermehren. Wir werden später sehen, daß diese Vorgänge alle wirklich stattfinden, jedoch von TÖNNIGES zu einer unrichtigen Reihenfolge verknüpft wurden.

Auf die Vorgänge am Opalinenkern zur Zeit der Cystenbildung bezieht sich ferner noch eine kurze Mitteilung von LÖWENTHAL (1904). Nach LÖWENTHAL nimmt der Chromatingehalt der gewöhnlich schwach färbbaren Kerne zur Zeit der Cystenbildung stark zu. Das Chromatin sammelt sich zunächst als eine mondsichelförmige Verdickung an der Peripherie des Kernes an, tritt aber dann in das Zentrum über, vermehrt sich weiter und bildet eine dichte zentrale Masse. Diese Kernform findet sich vielfach in den Cysten. Nun soll der zentrale Chromatinhaufen einen dichten kugeligen, besonders mit Eisenhämatoxylin stark färbbaren Körper ausstoßen, der sich dem Kernrand anlegt und abplattet, wobei er über die Kernperipherie hervorragt, so daß es sich nicht entscheiden ließ, ob er noch im Inneren des Kernes oder außen an der Peripherie liegt. Hier teilt er sich in zwei, seltener drei derartige Gebilde. Unterdessen verkrümelt der centrale Chromatinrest und verschwindet schließlich ganz. LÖWENTHAL vergleicht nun diesen aus dem Kern stammenden Körper dem Micronucleus der Ciliaten, „der bei dem in der Folgezeit voranzusetzenden Geschlechtsakt in Funktion zu treten hätte.“

In derselben Mitteilung erwähnt LÖWENTHAL auch noch eine gelegentlich vorkommende Zweiteilung des Tieres innerhalb der Cyste. Auch DOFLEIN (1901) verzeichnet kurz eine Mitteilung PRZESMICKI's, nach der ebenfalls die encystierten Opalinen sich teilen sollen. Ich selbst konnte derartiges nie bemerken. Vermutlich handelt es sich um eine ausnahmsweise verfrüht eingetretene Teilung, die der normalerweise gleich nach dem Verlassen der Cyste erfolgenden Teilung entsprechen dürfte. Dies ist alles, was meines Wissens bisher über die Fortpflanzungserscheinungen der echten Opalinen bekannt geworden ist. Ich gehe nun zur Darstellung meiner eigenen Untersuchungen über.

Material und Methoden.

Nach den Feststellungen ENGELMANN's und ZELLER's ist es leicht, sich das nötige Material für die einschlägigen Studien zu verschaffen. Man kann, wie allgemein bekannt, die vegetativen Formen der verschiedenen *Opalina*-Arten jederzeit in beliebiger Menge aus unseren einheimischen Batrachiern erhalten. Betreffs der Wirte der einzelnen Arten verweise ich auf die mehrfach citierte Arbeit

ZELLER's und auf die Tabelle, die BEZZENBERGER (1904) seiner Abhandlung beigegeben hat.

(In dieser Tabelle ist versehentlich als Wirt für *O. ranarum* *Rana esculenta* anstatt *R. temporaria* angegeben. Ich erwähne hier, daß in *R. esculenta* außer *O. dimidiata* noch eine weitere Art verbreitet ist, die ich *O. zelleri* zu nennen vorschlage. ZELLER hat diese Art bereits (l. c. p. 368) beschrieben und in Fig. 38 abgebildet, auch die Meinung ausgesprochen, daß es sich hier wahrscheinlich um eine neue Art handelt. Sie ist von *O. dimidiata* leicht zu unterscheiden, da sie viel plumper gebaut ist; ihre Breite beträgt $\frac{1}{2}$ bis $\frac{1}{4}$ der Länge. Von *O. ranarum* unterscheidet sie sich dadurch, daß sie nicht, wie diese, abgeplattet, sondern mehr tonnenförmig ist. Die von ZELLER beschriebene und abgebildete in Falten gelegte Einziehung des Hinterendes ist kein konstantes Merkmal.)

In dieser Mitteilung möchte ich nur von *O. ranarum* und *O. dimidiata* sprechen, wobei gleich hinzugefügt sei, daß alles Gesagte im Prinzip ebenso für *O. obtrigona* und *O. zelleri* zu gelten scheint, die ich aber nur gelegentlich zum Vergleich heranzog.

Herr Professor Dr. R. HERTWIG, mein hochverehrter Lehrer, hatte die Güte, mir aus seinem Material von Gras- und Wasserfröschen verschiedene Exemplare lebend, und von allen, die er im Verlaufe seiner Untersuchungen abtötete, die Enddärme zu überlassen. Ebenso erhielt ich von ihm eine Anzahl von Larven resp. Eiern zur Aufzucht. Ich möchte nicht versäumen, ihm auch an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank für sein freundliches Entgegenkommen auszusprechen, ebenso seinem damaligen Privatassistenten, Herrn Dr. HANS PRANDTL, sowie Herrn Kollegen CHAMBERS, der mir gleichfalls eine Anzahl Frösche überließ. Herrn Dr. DOFLEIN habe ich herzlich zu danken für freundliche Überlassung einer Anzahl von ihm gehörigen *Opalina*-Präparaten, die mir besonders zum Studium der Kernteilungen gute Dienste leisteten.

Da ich mir außer dem oben Erwähnten selbst viel Material verschaffte, verfügte ich, — besonders für die im erwachsenen Frosch vorkommenden Stadien — über außerordentlich große Mengen. *O. ranarum* und *O. dimidiata* sind in ihren vegetativen sowie in ihren Fortpflanzungsstadien meist in ungeheurer Anzahl im Mastdarm ihrer respektiven Wirte zu finden;¹⁾ man braucht nur das Rectum aufzuschneiden und den gesamten Inhalt auf einen Objektträger auszudrücken. Häufig findet man dann die Hauptmasse der Opalinen als einen großen weißlichen oder grünlichen Klumpen an einer Stelle

¹⁾ Der Meinung TÜSSIGES*, die Teilungsfähigkeit von *O. ranarum* sei weit größer als die von *O. dimidiata*, kann ich nicht beipflichten; ich fand oft *O. dimidiata* in mindestens ebenso großer Anzahl in einem Wirt.

angesammelt (*Balantidium* und *Nyctotherus* oftmals in einem gesonderten Klumpen vereinigt) und kann sie nach Zusatz von wenig Wasser leicht mit der Pipette abnehmen. Sind sie mehr gleichmäßig durch die ganze Kotmasse verteilt, so lassen sie sich leicht mit reinem Wasser herausspülen und in ein Uherschälchen sammeln.

Selten fand ich in einem Exemplar wenige Opalinen, in etwa 7 Proz. der untersuchten Frösche gar keine. Dies war immer der Fall, wenn der Mastdarm von anderen Parasiten übermäßig bevölkert war. In vielen Fällen war dies eine ungeheurre Menge kleiner Nematoden, wohl junge *Nematozys*, die offenbar eine tiefergehende Schädigung auf den Wirt ausübten; denn dann war meist die Darmwand schon äußerlich stark rot durchscheinend und das Lumen mit roten Blutkörperchen gefüllt. Hier schienen sich *Nyctotherus ovalis* und *Balantidium entozoon* gewöhnlich sehr wohl zu fühlen, die ja beide mit Vorliebe Erythrocyten fressen. Je stärker die Schädigung war, um so mehr trat *Nyctotherus* zurück und herrschte *Balantidium* vor; in besonders schlimmen Fällen waren nur Balantidien in erstaunlicher Menge zu finden. Der erwähnte Wurm wird vom Frosch mit dem Kote entleert, und zwar als Ei und schon ausgeschlüpft, und ist in beiden Fällen, wie ich öfters erprobte, zur Übertragung der Infektion auf Kaulquappen geeignet. Ich erwähne noch, daß uns eine Anzahl von Fröschen, besonders *R. esculenta*, im Frühjahr 1905 an solchen Darmblutungen zugrunde ging. In einigen Fällen fand ich auch Tiere frei von Opalinen, die keine Würmer (mehr?), sondern nur noch Balantidien in dem stark mit Blutkörperchen gefüllten Rectum beherbergten. Wenn ich auch die Angabe Stein's (1867), daß die Balantidien Opalinen fressen, aus mehrfacher eigener Anschauung bestätigen kann, so halte ich es doch für ausgeschlossen, daß die aus irgend einem Grunde besonders zahlreich vertretenen Balantidien die Opalinen auf diese Weise ausgerottet haben könnten. Vielmehr scheint der normale Aufenthaltsort der Opalina der Enddarm des gesunden Frosches zu sein, und mit jeder Schädigung des Wirtes, soweit sie auf den Enddarm von Einfluß ist, auch die Existenzbedingungen des Parasiten schlechter zu werden. Dies geht soweit, daß ich die Behauptung aufstellen möchte, das Fehlen von Opalinen im Enddarm sei ein sicheres Zeichen dafür, daß der Frosch nicht gesund war.¹⁾ In Einklang damit steht die Tatsache, daß in toten Fröschen immer erst die Opalinen, erst viel später *Nyctotherus* und *Balantidium* absterben.

¹⁾ Auch dies kann nur für *R. esculenta* und *R. temporaria* gelten.

Kehren wir nach dieser Abschweifung wieder zu den angewandten Untersuchungsmethoden zurück. Nach vielfachen Versuchen fand ich für die Stadien aus dem erwachsenen Frosch folgende einfache Technik am zweckentsprechendsten: Die im Uräschälchen gesammelten Tiere wurden in Formol-Pikrin-Essigsäure nach BOVIN fixiert und ca. 6 Stunden in dieser Flüssigkeit belassen, dann gut (1–2 Tage) in 70proz. Alkohol ausgewaschen, hierauf in stark mit Alkohol verdünntem Boraxkarmin einen Tag lang gefärbt, in salzsäurem Alkohol differenziert und schließlich in Nelkenöl übergeführt. Tiere, die einzeln untersucht werden sollten, wurden mit möglichst wenig Flüssigkeit auf einen Objektträger gebracht, mit einem Tropfen Chloroform-Alkohol-Eisessig nach CARNOY zugleich fixiert und angeklebt und dann wie Schnittpräparate weiter behandelt. Auch hierfür zeigte sich Boraxkarmin als vorzügliches Färbemittel, für kleinere Exemplare auch DELAFIELD'sches Hämatoxylin. Paraffinschnitte wurden in großer Zahl hergestellt und mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin, Safranin, Eisenalaun-Hämatoxylin u. a. gefärbt, jedoch ließ sich alles Wesentliche schon an Totalpräparaten studieren. Für das Studium der Cysten eigneten sich am besten Ausstriche, die gleichfalls mit BOVIN'scher oder CARNOY'scher Lösung angeklebt und mit Boraxkarmin gefärbt wurden. Für die im Kaulquappendarm befindlichen Stadien weiß ich leider keine befriedigende Methode anzugeben. Wie die Abbildungen zeigen, färben sich hier die Kerne meist schwächer als das Plasma, und ihre Struktur ist stets schlecht zu erkennen, so daß mir einige Details nicht klar geworden sind. Mit Ausstrichpräparaten ist nicht viel anzufangen; am besten ist es noch, den ganzen Enddarm zu fixieren und mit Boraxkarmin zu färben, und schließlich in Nelkenöl zu zerzapfen. Das Meiste erkennt man hier am lebenden Objekt,¹⁾ obwohl auch dies seine Nachteile hat. Die kleinen Tierchen fühlen sich offenbar nur im dicken breiartigen Darminhalt wohl und zwar in Mengen durcheinander schwimmend, so daß einzelne Individuen längere Zeit im Auge zu behalten schwer, und oft ganz unmöglich ist. Zusetzen von Flüssigkeit wirkt immer ungünstig; die Prozesse laufen nicht mehr normal ab und die Tiere sterben bald ab, nachdem sie zum Teil vorher agglomeriert haben.²⁾ Zusatz von verdünnter Essigsäure ist in vielen Fällen sehr günstig.

¹⁾ Das frische Präparat muß sofort, um die Verdunstung der spärlichen Flüssigkeit zu verhindern, mit einem Wachstrand umgeben werden.

²⁾ Sehr störend sind die Rotatorien, die oft massenhaft von den Kaulquappen aufgenommen werden, aber ganz ungeschädigt den Darmkanal passieren, jedenfalls

Ähnliches gilt auch für die Stadien aus dem Darm erwachsener Frösche. Freischwimmende Exemplare in verschiedenen Stadien ließen sich öfters mehrere Tage außerhalb des Wirtstieres am Leben erhalten, am besten (einmal sogar 9 Tage lang) in gewöhnlichem Wasser, dem reichlich Froschkot zugesetzt war. Physiologische Kochsalzlösung wirkte rasch schädigend auf die Tiere ein. Aber auch das längere Züchten in Wasser hat wenig Wert. Eine Stunde ungefähr schienen die Tiere sich ganz wohl zu fühlen; angefangene Teilungen wurden zu Ende geführt und neue begonnen. Aber bald stockten diese Vorgänge, die Tiere wurden träge und sanken zu Boden, wo sie mit den Wimpern arbeiteten, ohne sich fortzubewegen. Ich habe oft isolierte Längsteilungsstadien drei oder vier Tage am Leben erhalten, ohne daß der Teilungsprozeß bis zu Ende gedieh. Schließlich sterben die Tiere unter Verquellungserscheinungen ab. Man gewinnt also für die Erkenntnis der Fortpflanzungsvorgänge eigentlich gar nichts durch eine solche Züchtung außerhalb des Wirtes.

Cysten halten sich in reinem Wasser gut zwei bis drei Wochen und bleiben infektiösfähig.

Spezieller Teil.

Die agamogene Generation.

Während des ganzen vegetativen Lebens findet man die Opalinen im Froschrectum immer annähernd gleich aussehend, wie sie ZELLER und TÖNNIGES beschrieben haben. An gefärbten Tieren fällt der geringe Chromatingehalt der Kerne sofort auf (Taf. II Fig. 1). Ein wabiges achromatisches Gerüst der Kerne ist stets gut zu erkennen, dem wenige minimale Chromatinpartikelchen eingelagert sind. Nur bei der Kernteilung erkennt man etwas größere, gut differenzierbare chromatische Gebilde, die fadenförmigen Chromosome. Vor und nach der Kernteilung, die TÖNNIGES (1899)¹⁾ vollständig richtig beschreibt, findet sich eine Art von Spiremstadium, (Taf. II Fig. 3c), das auch BEZZENBERGER für *O. macronucleata* Bezz. abbildet (Fig. 15c). Mit Recht hebt auch TÖNNIGES hervor, daß die

in encystiertem Zustand. Im frischen Präparat leben sie dann wieder auf und treiben durch das lebhafte Spiel ihrer Räderorgane die kleinen Stadien von Opalina fortwährend durcheinander. Ein Gametenpaar, das sich eben, offenbar zur Kopulation, verbinden wollte, wurde mir auf diese Weise getrennt.

¹⁾ Schon vor ihm PRITZNER (1885), der aber insofern schematisierte, als er eine typische Äquatorialplatte abbildete, die hier so schön ausgebildet nie vorkommt.

Kernmembran während des ganzen Vorganges erhalten bleibt. Im übrigen verzichte ich auf eine genaue Beschreibung dieses Prozesses, von dem ich in Fig. 3a—e einige Stadien wiedergegeben habe, da ich nur die Angaben PRITZNER's und TÖNNIGES' wiederholen könnte. Ebensovienig wie der letztgenannte Forscher konnte ich die Längsspaltung der Chromosome sehen; ebenso wie er konstatierte ich das Fehlen jeglicher centrosomaähnlichen Differenzierung. Die Zahl der Chromosome an jedem Pol ließ sich in vielen Fällen annähernd sicher, in einem Falle¹⁾ ganz sicher auf zwölf bestimmen; ein Umstand, auf den ich noch zurückkommen werde. Nach der Teilung nehmen die Tochterkerne bald wieder das blasse, chromatinarme Aussehen des bläschenförmigen Mutterkernes an. ZELLER spricht mehrfach von Kernkörperchen, deren jeder Kern eines besitzen soll. Sie sollen sich nicht mitteilen, sondern ganz in einen der Tochterkerne übergehen, während der andere Tochterkern einen neuen bildet. TÖNNIGES erwähnt mehrere Nucleolen in einem Kern, die während der Teilung erhalten bleiben, eventuell vorher zu einem einzigen verschmelzen. Gebilde, die ich als Nucleolen ansprechen möchte, habe ich eigentlich nie gesehen, sondern nur hier und da, aber keineswegs konstant, größere unregelmäßig konturierte Chromatinbrocken, die allerdings auch in die Spindel übergehen können. Häufiger fand ich diese Gebilde bei der zweikernigen *O. caudata* aus *Bombinator pachypus*, wo Bilder entstehen können, wie sie BEZZENBERGER in Fig. 16a—e für *O. lanceolata* [BEZZ.] zeichnet.

Auch Opalinen, die aus dem im Winterschlaf liegenden Frosch entnommen wurden, zeigten kein anderes Aussehen, als die Sommer- und Herbstformen. Kern- und Zellteilungen finden (bekanntlich unabhängig voneinander) jederzeit statt; doch sind Zellteilungen nicht gerade sehr häufig zu finden. Ich fand sowohl Längs- wie Querteilungen, und glaube, daß sie auch während der vegetativen Periode in derselben Reihenfolge ablaufen wie die von ZELLER geschilderten Teilungen vor der Cystenbildung. Von diesen unterscheiden sie sich (abgesehen von den später zu besprechenden Kernveränderungen) nur durch ihr seltenes Vorkommen und dadurch, daß die Teilsprößlinge jeweils zu ihrer ursprünglichen Größe wieder heranwachsen. Diese Fortpflanzung ist direkt zu vergleichen der multiplikativen Fortpflanzung (DOFLEIN) Schizogonie (SCHAUDINN (1899) oder Agamogonie (HARTMANN 1903) anderer Protozoen. Sie

¹⁾ Dies gilt für *O. rosarium*, wie überhaupt diese ganze Schilderung. Doch scheint auch *O. dimidiata* 12 Chromosome zu besitzen.

dient ausschließlich zur Vermehrung der Individuenzahl innerhalb des einmal infizierten Wirtstieres. Irgendwelche geschlechtliche Vorgänge kommen im Sommer, Herbst und Winter nicht vor.

Die Chromidienbildung bei *O. ranarum*.

Mit Beginn des Frühjahrs, und damit der Fortpflanzungszeit von *Rana temporaria*, nehmen die Zellteilungen einen anderen Charakter dadurch an, daß sie ohne Unterbrechung aneinander folgen, so daß der Tochterzelle keine Zeit verbleibt, wieder zur vollen Größe heranzuwachsen, ehe eine neue Teilung eintritt. Diesen Zerfall in kleine Sprößlinge durch rasch wiederholte Teilungen hat ZELLER eingehend beschrieben. Zu gleicher Zeit nimmt auch die Teilungsenergie der Kerne ganz auffallend zu, so daß sich diese Kerne, die wir den Prinzipalkernen SCHAUDINN's vergleichen müssen, bis zu ihrem Verschwinden unaufhörlich in rascher Folge vermehren. Und zwar schien es mir, als ob diese Teilungsenergie, je näher ihr Ende heranrückt, um so mehr zunähme. In kleineren Individuen, die noch keine Geschlechtskerne gebildet haben, ja selbst in solchen, die neben den neuen Geschlechtskernen noch dem Untergang geweihte Prinzipalkerne zeigen (Taf. II Fig. 10), sieht man letztere noch fortwährend in Spirem- und Spindelstadien. Ich glaube, daß ein geringes Wachstum der Tochterzellen nach jeder Teilung mit dieser beständigen Vermehrung der Prinzipalkerne Hand in Hand geht, so daß dadurch noch eine oder zwei Zellteilungen mehr stattfinden können, als wenn dies nicht der Fall wäre. Dafür spricht auch die geradezu riesige Menge von Teilprodukten, die man in einem Frosch findet. Wie schon ZELLER hervorhob, macht ein gewisser Prozentsatz von Opalinen in jedem Frosch den ganzen Prozeß nicht mit oder teilt sich nur einige wenige Male. Diese Individuen bilden sozusagen den eisernen Bestand, der nach Ablauf der ganzen Fortpflanzungserscheinungen und Ausstoß der Cysten im Froschdarm zurückbleibt und im Sommer und Herbst durch einfache Agamogonie wieder die Infektion auf die frühere Stärke zurückbringt.

Gleich zu Beginn dieser Teilungen, die also als der Anfang der Sporogonie (Gamogonie) aufgefaßt werden müssen, treten auch die von ZELLER natürlich nicht beobachteten Erscheinungen auf, die zur Chromidienbildung führen. Ich gebrauche den Ausdruck Chromidien im weiteren Sinne, da, wie wir sehen werden, hier wie bei mehreren Protozoen eine Mischung von Sporetien und Chromidien (im engeren Sinne) vorliegt.

Der Prozeß beginnt an einem Ende des Tieres, gewöhnlich dem breiteren, und schreitet allmählich gegen den anderen Pol zu vor, so daß man oft in der Lage ist; an einem und demselben Tiere eine ganze Anzahl verschiedener Stadien zu sehen und über ihre Reihenfolge dadurch größere Sicherheit zu gewinnen (Taf. II Fig. 2). Man sieht zunächst (Taf. II Fig. 4a—c) im Inneren der Kerne Chromatin in größerer Menge, gleichmäßig fein verteilt, auftreten, so daß schließlich ganz intensiv gefärbte Kerne entstehen (Taf. II Fig. 2, stumpfer Pol). Meist bleibt ein schmaler Rand innerhalb der deutlich sichtbaren Kernmembran schwach färbbar (Taf. II Fig. 4a, c, d). Woher die nun auftretenden größeren Chromatinmengen eigentlich stammen, ist mit Sicherheit nicht zu eruieren; die Umgebung des Kernes zeigt sich in nichts verändert. Ich glaube wohl annehmen zu dürfen, daß das Chromatin im Kern selbst, in einer irgendwie gebundenen, färberisch nicht darstellbaren Form vorhanden war.

Während nun, nachdem die meisten Kerne am stumpfen Pol chromatinreich geworden sind, der Prozeß gegen die Mitte zu fortschreitet, beginnt an den Ersteren Chromatin zunächst in geringerer Menge durch die Kernmembran hindurch auszutreten (Taf. II Fig. 4, d, e), hierauf in großen kompakten Klumpen. Sehr vielfach liegen die Austrittsstellen an zwei sich gegenüberliegenden Seiten des Kernes (Fig. 4, h) jedoch kann dies auch nur an einem Pol (g) oder fast um die ganze Peripherie herum gleichmäßig stattfinden (f). Es scheint etwa ebensoviel Chromatin auszutreten, als neu gebildet wurde resp. frei wurde; so daß die Kerne selbst hernach wieder gerade so schwach färbbar sind wie vorher, aber von einer Zone sehr intensiv gefärbter Substanz umgeben. Dieser Chromatinmantel, der dem Kern anfangs dicht anliegt, beginnt dann sich aufzulockern und in größeren und kleineren unregelmäßig konturierten Brocken das Plasma zu durchsetzen (Taf. II Fig. 4i, k, l).¹⁾

Ein gewisser kleiner Prozentsatz der Kerne scheint nun den ganzen Prozeß nicht mitzumachen, wie ich wenigstens aus dem Umstand entnehme, daß man auch an den Stellen, wo die Chromatinisierung der Kerne oder die Ausstoßung von Chromidien gerade am lebhaftesten vor sich geht, stets einige wenige Kerne finden kann, die das Aussehen, das sie z. B. während des Winterschlafes der Frösche

¹⁾ Auf vorgeschrittenen Stadien der Chromidienbildung findet man vielfach eine Zone kleiner Chromatinkörnchen an der ganzen Peripherie des Tieres, während im Innern noch neue Chromidien gebildet werden oder erst in großen Klumpen aus dem Kern ausgetreten sind.

zeigten, unverändert beibehalten. Dieser Umstand dürfte vielleicht bedeuten, daß die Kerne während der Chromidienbildung nicht instande sind, ihre frühere, dem vegetativen Leben der Zelle dienende Funktion auszuüben, und daß daher ein unbedingt notwendiges Minimum von Kernen diese Funktion und die damit verbundene Struktur beibehalten muß. Andererseits läßt sich natürlich die Möglichkeit nicht ausschließen, daß alle Kerne den Prozeß der Chromidienbildung durchzumachen haben, nur eben, aus der oben angeführten Ursache, nicht alle zugleich (auch nicht alle in einem Bezirk der Zelle zugleich). Da nämlich die an der Chromidienbildung beteiligten Kerne nach Ablauf dieses Vorganges ganz ihr früheres Aussehen wieder annehmen, wenigstens für eine Zeitlang, und da diese Kerne auch nachher noch funktionsfähig zu sein scheinen, wie ich aus ihren fortgesetzten Teilungen schließe, so wäre es immerhin möglich, daß z. B. die am stumpfen Pole des in Fig. 2 abgebildeten Tieres liegenden wenigen farblosen Kerne nur eben warten, bis die anderen wieder funktionsfähig geworden sind, um dann ihrerseits in den Prozeß einzutreten. Dieselben Erwägungen lassen sich, wie schon angedeutet, an den Umstand anknüpfen, daß eben der ganze Prozeß so von einem Ende des Tieres zum anderen fortschreitet, so daß nie alle Regionen zugleich ganz von der Chromidienbildung in Anspruch genommen sind. Allerdings habe ich nie Tiere gesehen, bei denen schon in allen Regionen die Chromidien gebildet waren, während nun die vorher unbeteiligten Kerne das Versäumte nachholten, wie zu erwarten wäre, wenn die zuletzt geäußerte Meinung die richtige wäre. Ich glaube also, daß unter den Priuzipalkernen sich eine Anzahl von rein vegetativen „Reservekernen“ befindet, die von dem ganzen Prozeß dauernd ausgeschlossen bleiben, aber zugleich mit den übrigen zugrunde gehen; und daß die Teilungsstadien, die man während und nach der Chromidienbildung noch findet, eben diesen Reservekernen angehören. Welches ist nun das Schicksal der Chromidien?

Ein verhältnismäßig geringer Teil davon geht sicher unter Pigmentbildung zugrunde. Man sieht oft auf vorgeschrittenen Stadien der Chromidienbildung größere Chromatinklumpen, in denen sich verschieden geformte Stäbchen und Körnchen einer sehr stark lichtbrechenden, schwarzen glänzenden Substanz ansammeln (Fig. 4 m). Eine große rundliche Anhäufung solchen Pigmentes fand ich auf etwas späteren Stadien oft in den Tieren, einmal sogar in fast sämtlichen Individuen eines Froschdarmes; jedoch ließ sich dieses Pigment, im Gegensatz zu dem in Bildung begriffenen, noch in den

Chromatinklumpen eingeschlossen, in den konservierten und gefärbten Tieren nicht mehr nachweisen. Eine ähnliche Bildung von Pigment aus Chromidien ist für *Actinosphaerium Eichhorni* bereits bekannt (HERTWIG 1904). Dieser Teil des ausgestoßenen Chromatins stellt also Chromidien im engeren Sinne (GOLDSCHMIDT 1904) oder Somatochromidien (SCHAUDINN 1905) dar.

Die Bildung der Geschlechtskerne.

Der übriggebliebene Teil der Chromidien, den wir nunmehr als Sporetien (GOLDSCHMIDT 1904) oder Gametochromidien (SCHAUDINN 1905) anzusprechen haben, verteilt sich zunächst in Gestalt kleiner rundlicher Körnchen durch das ganze Plasma (Taf. II Fig. 6). Unterdessen ist die fortwährende Quer- und Schrägteilung der Opalinen ohne Unterbrechung weiter gegangen und hat zur Bildung schon wesentlich kleinerer Individuen mit weniger Kernen geführt.

Bevor ich nun mit der Schilderung der Kernveränderungen fortfahre, muß ich noch eines anderen Vorganges gedenken, der jetzt einsetzt. ZELLER entdeckte im „Körperparenchym“ der *O. ranarum* wie der übrigen Opalinen „neben einer außerordentlichen Menge ganz kleiner glänzender Kügelchen“ etwas „größere eigentümliche scheibenförmige Körperchen“, die er Taf. XXIII Fig. 3 abbildete. Ich bin mir nicht völlig darüber klar geworden, ob er mit den „Kügelchen“ nur die in jedem Plasma vorhandenen Körnchen meint, oder ob er unter den auffallenden, für die Opalinen charakteristischen Plasmaeinschlüssen diese beiden Kategorien unterscheidet. Die späteren Untersucher, wie TÖNNIGES und MAIER, scheinen der ersteren Ansicht gewesen zu sein und reden nur von den „scheibenförmigen Körperchen“. Vorausgreifend will ich gleich bemerken, daß ich es nicht fertig brachte, an den vegetativen Stadien zweierlei Einschlüsse, „Kügelchen“ und „scheibenförmige Körperchen“, sicher voneinander zu unterscheiden, daß ich aber, wie aus dem folgenden hervorgehen wird, diesen Dingen zweierlei verschiedene Funktion zuerkennen möchte. Ich betone aber gleich hier, daß meine diesbezüglichen Beobachtungen mich zu keiner vollständigen Klarheit geführt haben und mit einiger Reserve aufzunehmen sind.

TÖNNIGES untersuchte die scheibenförmigen Körperchen genauer, konnte aber durch mikrochemische Reaktionen nichts Sicheres über ihre Natur ermitteln. Dagegen sah er häufig Teilungen der scheibenförmigen Körperchen. Auf Grund dieses Befundes hält er zwei Möglichkeiten für gegeben: entweder handelt es sich um parasitische

Organismen oder um den in kleine Teilstücke aufgelösten Macronucleus. Auch schreibt er den Körperchen eine wabige Struktur zu, „die jedoch infolge der Kleinheit des Objektes nur wenige Waben umfaßt“. Hierin widerspricht ihm MAIER, der die Gebilde stets ganz homogen fand. Von wabiger Struktur dieser Gebilde sah auch ich nichts. Auch die von TÖNNIGES angegebenen Teilungsstadien sah ich nicht, bis auf einige annähernd biskuitförmige Stadien, die mir nicht direkt beweisend schienen; jedoch will ich deshalb die Richtigkeit der Beobachtungen TÖNNIGES' durchaus nicht in Zweifel ziehen. (CONTE und VANEY (1903) beschreiben für *O. intestinalis* (EHRBG.) [?] aus *Triton taeniatum* die Entstehung dieser Plasmaeinschlüsse aus Körnchen, die aus dem Kern ausgestoßen werden und sich anfangs stark mit Chromatinfarbstoffen tingieren. Vielleicht haben sie Stadien der Chromidienbildung gesehen?)

Gleichzeitig nun mit der oben beschriebenen Chromidienbildung sah ich Veränderungen eines Teiles dieser scheibenförmigen Körperchen vor sich gehen. Diejenigen Einschlüsse, die diese Veränderungen nicht mitmachen, will ich Kügelchen nennen, in der Voraussetzung, daß diese Unterscheidung mit der ZELLER's zusammenfällt. Bei Tieren, die noch vor oder im Beginn der Chromidienbildung stehen, sind die Scheiben kaum von den Kügelchen zu unterscheiden, da die Dimensionen beider etwas schwanken. (Durchmesser 1,5—3 μ .) Im Verlaufe dieses Prozesses aber beginnen die Scheiben zu wachsen und eine unregelmäßige Gestalt anzunehmen, bis sie als große, bis zu 12 μ lange und breite Körper im Plasma liegen. Ob hier nicht auch Verschmelzungen mehrerer Scheiben mitspielen, vermag ich nicht zu sagen. In meinen Totalpräparaten waren sie vom Karmin ungefärbt geblieben und hatten einen leicht gelblichen Ton von der Pikrinsäure-Fixierung her beibehalten, so daß sie sehr deutlich ins Auge fielen (Taf. II Fig. 5). In mit Eisenhämatoxylin gefärbten Schnittpreparaten sind sie stark geschwärzt und durch den Mangel einer Struktur sofort von den Kernen zu unterscheiden. Ungefähr zu dieser Zeit hat auch das Ectoplasma das grobvaknoläre, von TÖNNIGES richtig abgebildete Aussehen gewonnen.

Im nächsten Stadium nun sind diese vergrößerten Scheiben nicht mehr nachweisbar; doch finden sich an ihrer Stelle im Plasma verteilt kugelige bis eiförmige Gebilde von anderer Konsistenz, die sich etwa wie große Alveolen ausnehmen (Taf. II Fig. 7.) Das Sporetium, das sich vorher in Form kleiner Teilchen frei im Plasma befunden hatte, findet sich nun zum größten Teil in diese Alveolen eingelagert; meist sieht man einen größeren Chromatinbrocken, manchmal auch

mehrere in einer Alveole (Taf. II Fig. 8). Anfangs findet man noch einzelne Chromatinteile frei im Plasma (Fig. 7), später sind alle in Alveolen untergebracht; jedoch bleibt ein Teil der letzteren leer (Taf. II Fig. 10) und verschwindet später. Diese Alveolen oder plasmatischen Kugeln erinnern mich an die von M. ZÜLZER (1904) in den Cysten von *Diffugia urceolata* und von SCHEEL (1899) in *Amoeba proteus*-Cysten gefundenen Plasmakugeln, in die gleichfalls chromatische Substanz eingelagert ist. Jedoch scheint das Schicksal dieser Gebilde ein völlig anderes zu sein.

Bei *Opalina* verteilt sich zunächst das Chromatin in Form feiner Körnchen regelmäßig durch die ganze, immer kompakter werdende Plasmakugel; man sieht eine Kernmembran auftauchen und ein Kerngerüst sich bilden. Taf. II Fig. 9 zeigt neben alten verblässenden Prinzipalkernen junge Kerne in verschiedenen Bildungsstadien; in Fig. 10 sehen wir die kleinen chromatinreichen Geschlechtskerne regelmäßig im Plasma verstreut, dazwischen chromatinlos gebliebene Plasmakugeln sowie Prinzipal- und Reservekerne. Letztere zeigen noch immer Spirem- und Teilungsstadien.

Ich habe nun die Vermutung, daß die vergrößerten Scheiben und die plasmatischen Kugeln oder Alveolen ein und dieselben Gebilde sind, und zwar daß sie das achromatische Substrat der Geschlechtskerne darstellen. Die scheibenförmigen Körperchen ZELLERS würden also nicht, wie TÖNNIGES vermutet, den in kleine Teilstücke aufgelösten Macronucleus darstellen, sondern die Nucleolarsubstanz¹⁾ der Geschlechtskerne, die natürlich dem Micronucleus der echten Ciliaten entsprechen, während die Prinzipal- und Reservekerne das Äquivalent des Macronucleus sind. Die von TÖNNIGES behauptete Teilbarkeit der scheibenförmigen Körperchen würde nicht schlecht zu dieser Ansicht stimmen. Wie schon gesagt, handelt es sich hier um eine Hypothese, für die ich den Beweis schuldig bleiben muß. Die chromatinlos gebliebenen Alveolen verschwinden bald; auch die Kügelchen verschwinden im Verlaufe der folgenden Vorgänge spurlos, so daß die Tiere vor der Encystierung völlig frei von ihnen sind. Ich bin geneigt, diese Kügelchen für Reservenahrung zu halten.

¹⁾ Legt man solche, mit Boraxkarmin gefärbte Präparate in Nelkenöl, in dem etwas Methylgrün gelöst ist, so erhalten die vergrößerten Scheiben eine grünliche Färbung, ohne sich jedoch so stark grünblau zu färben, wie dies R. HERTWIG für die Nucleolarsubstanz von Infusorienkernen bei derselben Behandlung erzielt hat.

Die Cystenbildung.

Die Tiere, in denen die neuen Kerne fertig gebildet sind, sind schon ganz erheblich kleiner als die Normalen; doch haben sie bis zur Encystierung gewöhnlich noch einige Zellteilungen durchzumachen. Man findet sie mit ein bis zwei Dutzend neu gebildeter Geschlechtskerne; dazwischen liegen noch spärliche Prinzipal- oder vielleicht nur noch Reservekerne. Auch diese sind nun unbrauchbar geworden, sie werden blasser und undeutlicher und sind bald ganz verschwunden. Unterdessen sind die neugebildeten Geschlechtskerne etwa zur halben Größe der Prinzipalkerne herangewachsen und nehmen nun eine eigenartige Struktur an. Während sich im Zentrum ein geringer Teil des Chromatins, in Form feiner Körnchen dem achromatischen Wabenwerk eingelagert, erhält, tritt der größere Teil an die Peripherie, wo er sich in Form mehrerer halbmondförmiger Calotten ansammelt. Anfangs kann man deren manchmal drei oder vier kleinere unterscheiden (Taf. II Fig. 11 b), doch fließen sie bald in zwei ungefähr gleichgroße Ansammlungen zusammen, die erst ziemlich weit ins Kerninnere hineinragen (Fig. 11 a), dann aber sich zu einer dünnen, der Kernmembran immer dicht anliegenden Schicht ausbreiten, so daß die charakteristische, mondsichelförmige Figur entsteht, die LÖWENTHAL (l. c.) beschrieben hat. Wenn LÖWENTHAL meint, wo zwei solche Körper vorhanden sind, so seien sie durch Teilung aus einem entstanden, und eines der Teilstücke teile sich oft noch einmal, so glaube ich umgekehrt, daß die zwei kleinen in Fig. 11 b zu einem größeren verschmelzen werden. Sicher ist, wie wir sehen werden, daß das Stadium mit zwei Calotten dem mit einer zeitlich vorangeht, also nicht durch Teilung aus diesem entstanden sein kann. Die Lage der beiden Gebilde gegeneinander ist sehr verschieden; sie können sich gerade gegenüber liegen (Fig. 11 c), oder dicht nebeneinander (Fig. 11 d). Man sieht sie beinahe stets im Profil; in den seltenen Fällen, wo man sie von der Fläche zu sehen bekommt, erkennt man, daß es sich um flache, schwach konvexe Scheiben handelt, die der Kernmembran dicht anliegen und eben meist senkrecht auf der breiten Fläche des Tieres stehen (Fig. 11 c).

Während dieser Zustand sich ausbildet, teilen auch die Geschlechtskerne sich lebhaft. Jedoch sieht die Kernspindel ganz anders aus als die der früheren Kerne. Sie ist viel rundlicher, plumper und gedrungener als jene, so daß sie, am lebenden Tier beobachtet, fast aussieht wie eine einfache, amitotische Durch-

schnürung des Kerns. Wenn TÖNNIGES (1899) von gelegentlichem Vorkommen amitotischer Teilungen spricht, haben ihm vielleicht solche Bilder vorgelegen. Diese Spindeln zeigen sich auch auf den ersten Blick als viel chromatinreicher als die früheren. Die Zahl der Chromosome, die denselben Charakter und dieselbe Anordnung zeigen, ist wesentlich größer. Es ist mir hier nicht gelungen, diese Zahl unzweifelhaft festzustellen. Doch ergaben viele Zählungen (bei *O. ranarum*) die Zahlen 21, 22 und 23, so daß ich mit großer Wahrscheinlichkeit annehme, daß diese Spindeln die doppelte Chromosomenzahl der früheren, 24, aufweisen.

Sonst ist der Charakter dieser Caryokinesen derselbe wie der früher beschriebenen; auch sie zeigen keine Centrosomen und keine typische Äquatorialplatte (Taf. II Fig. 12). Auch hier konnte die Spaltung der Chromosome nicht beobachtet werden.

Durch diese beständigen Teilungen der Geschlechtskerne wird die Anzahl der Tiere, die schließlich zur Encystierung kommen, noch weiterhin vermehrt. Bis zur Fertigstellung der typischen zweikappigen Kerne sind nun sehr kleine Individuen mit etwa einem Dutzend Kernen entstanden (Taf. II Fig. 13). Es beginnt jetzt ein auffällender Vorgang, der nicht völlig gleichzeitig bei allen Kernen eines Tieres eintritt. Man sieht eine der beiden chromatischen Kappen sich über die Kernmembran vorwölben, von ihr ablösen, und schließlich als eine kleine, stark tingierbare Kugel außerhalb des Kernes liegen. Der Vorgang muß sehr rasch erledigt werden, da man Übergangsstadien sehr selten findet; auch im Leben konnte ich ihn nie beobachten. Nur kurze Zeit sieht man die Chromatinkügelchen im Plasma liegen; dann verschwinden sie spurlos, offenbar werden sie resorbiert. Fig. 13 zeigt einige Kerne noch zweikappig, einen in Teilung, der also auch die Ausstoßung der ersten Kappe noch nicht hinter sich hat (denn nachher finden keine Caryokinesen mehr statt) und einige einkappige Kerne mit danebenliegender Chromatinkugel. Im folgenden Stadium, Fig. 14, sind bereits alle Kerne einkappig, die Chromatinkügelchen aber bereits nicht mehr zu sehen. Diese Figur zeigt auch, daß während dieses Vorganges sich das in den Kappen nicht enthaltene Chromatin diffus im ganzen Kerne verbreitet hat, während es vorher mehr die zentrale Partie einnahm, wo es in Gestalt größerer Partikelchen lag. Ähnliche Verhältnisse zeigen auch LOEWENTHAL'S Bilder; vgl. seine Fig. 9 und 10. Es kann direkt vor, während oder nach diesem Vorgang noch eine, eventuell zwei Zellteilungen stattfinden, so daß die von ZELLER beschriebenen, zur Encystierung fertigen kleinsten Individuen des

Froschdarms resultieren. Ihre Länge beträgt 40—50 μ im Durchschnitt, die Zahl ihrer Kerne meist 3—6. Auch etwas größere Individuen mit bis 12 Kernen können sich schon encystieren, wie auch ZELLER angibt. Seine Mitteilung, daß sich Tiere, die eine letzte Teilung begonnen, aber nicht vollendet haben, gleichfalls encystieren können, kann ich zwar aus eigener Anschauung nicht bestätigen, doch paßt es sehr gut zu den später mitzuteilenden Beobachtungen. In solchen Fällen fanden vermutlich die oben erwähnten von LOEWENTHAL und PRZESMICKI beobachteten Teilungen innerhalb der Cyste statt.

Die Encystierung erfolgt genau so wie sie ZELLER, (p. 359 f.) beschreibt: . . . „dann werden sie zusehends langsamer in ihren Bewegungen, ziehen sich kugelförmig zusammen und scheiden, indem sie sich dabei schneller oder langsamer drehen, eine farblose, glashelle Cyste um sich ab.“ . . . „Ist die Cyste fertig, so liegt das Tierchen still. Es füllt zunächst den Raum völlig aus und läßt keine Cilien mehr erkennen. Bald aber zieht es sich stark zusammen und nimmt eine in eigentümlicher Weise zusammengerollte Stellung an, zeigt dann auch wieder deutlich seinen Besatz langer, langsam schwingender Cilien.“

Fig. 15, a, b, c zeigt solche Cysten. Das gefärbte Präparat läßt erkennen, daß die im Leben sichtbare Cystenhülle nicht die einzige ist, vielmehr ist sie noch von einer ziemlich breiten Zone durchaus glasheller und durchsichtiger, vermutlich gallertiger Substanz umgeben, die man weniger sieht, als daran erkennt, daß alle im Präparat enthaltenen, aus dem Froschdarm oder dem Wasser stammenden Gebilde, Schmutz, Algen, Flagellaten usw. in ihrem Umkreis verdrängt sind. Ihre äußere Kontur ist aber manchmal schwach gefärbt. In der Reihenfolge a, b, c zeigen diese Figuren auch, wie das nicht in der Kalotte enthaltene Chromatin, das, wie gesagt, diffus durch den ganzen Kern verteilt war, sich wieder mehr in das Centrum zurückzieht und in distinkten Partikelchen sammelt. Wie Fig. 16 erkennen läßt, kann man in den Kernen der Cyste die Kalotte auch im Leben an ihrer anderen Lichtbrechung deutlich erkennen. Daß nicht alle hier und in Fig. 15 abgebildeten Kerne die Kalotte zeigen, liegt einfach daran, daß sie nicht in der eingestellten Ebene liegt; vorhanden ist sie immer. Daß diese vier Cysten alle je drei Kerne zeigen, ist Zufall oder vielmehr der Übersichtlichkeit wegen getroffene Auswahl; übrigens liegen eventuell in anderen Ebenen noch mehr Kerne. Die meisten Cysten, die ich sah, hatten 4, 5 oder 6 Kerne. Zweikernige Exemplare

sind schon selten. ZELLER gibt an, nie eine einkernige Cyste im Froschdarm gesehen zu haben. Ich habe einige gesehen, aber äußerst selten, unter mehreren Tausenden nur 10 oder 12. Auch LOEWENTHAL hat offenbar einkernige Individuen gesehen, wie ich aus seiner Bemerkung schließe: „Einkernige Cysten mit solchem Kern können ausnahmsweise mit *Basidiobolus ranarum* verwechselt werden.“ Immerhin sind aber diese einkernigen Cysten so außerordentlich selten und ihre Kerne so klein, daß sie unmöglich die von ENGELMANN und allen folgenden Beobachtern beschriebenen Cysten des Kaulquappendarmes sein können.

In dem beschriebenen Zustand findet man die Cysten lange Zeit hindurch stets im Froschdarm wie im frisch abgelegten Froschkot. Nach einigen Wochen wird der Froschdarm wieder ganz frei davon, da sie alle mit dem Kot ins Wasser entleert worden sind. Liegen diese Infektionscysten einige Tage im Wasser, so wiederholt sich der Prozeß der Chromatinausstoßung von neuem, wie Taf. II Fig. 17 u. 18 zeigen. Fig. 17 zeigt eine Kalotte bereits abgestoßen und kugelförmig geworden, die andere hebt sich eben vom Kern ab, ein Fall, den man, wie gesagt, äußerst selten sieht. Die Kerne sind dabei etwas länglich geworden, nehmen aber (Fig. 18) sehr rasch ihre ursprüngliche Kugelform wieder an. Wie beim erstenmal, hat sich auch hier wieder das Chromatin diffus durch das ganze Kerninnere verteilt. Fig. 19 zeigt eine der wenigen einkernigen Cysten dieses Stadiums, Fig. 20 zeigt den Prozeß vollendet, auch die zweite abgestoßene Chromatinkugel resorbiert und verschwunden. Dieser Zustand ist, wie gesagt, nach einigen Tagen, die die Cyste im Wasser gelegen hat, erreicht; ich will sie in diesem Stadium als reife Cyste bezeichnen.

Die Infektion der Kaulquappen.

Verfüttert man nun solche Cysten an Kaulquappen, die ja begierig den Kot der alten Frösche verzehren, so sieht man zunächst die Kerne bestimmte Veränderungen eingehen (die übrigens auch an Cysten beginnen, die einige Zeit im Wasser gelegen haben). Der ganze Kern verliert seine fest umgrenzte Gestalt, er wird größer und am lebenden Objekt immer undeutlicher zu sehen. Diese Stadien sind es jedenfalls, die ZELLER gesehen hat, bei denen „in einzelnen Fällen die mehrfachen Kerne bei Zusatz von verdünnter Essigsäure ganz auffallend blaß und undeutlich sich zeigten, hin und wieder aber auch gar keine Kerne, weder mehrfache noch einfache, nachgewiesen werden konnten“ (l. c. p. 361). Im letzteren Falle mögen

ihm auch abgestorbene Cysten untergekommen sein, wie sie öfters auch nach verhältnismäßig kurzem Liegen im Wasser in Menge auftreten — vielleicht infolge zu starker Fäulnis im umgebenden Medium. ZELLER zog daraus den Schluß, die einkernigen Cysten entstünden vermutlich durch Auflösung der Kerne und Neubildung des einen; eine Ansicht, die ich mir, beeinflußt durch die ganze bisherige Literatur, vollständig zu eigen machte. Ich verbrachte daher das ganze vorige Frühjahr mit dem Aufsuchen der Stadien dieses Prozesses. Auch die gefärbten Präparate solcher frisch verfütterter Cysten schienen diese Meinung zu bestätigen. Sie zeigten (Taf. III Fig. 21) die Kerne etwas vergrößert, ohne deutlich nachweisbare Kernmembran, das Chromatin in größeren Brocken regellos verteilt. Meist war der Kern dabei auch ziemlich stark in die Länge gezogen, wie in den Fig. 27, 29, 31. Öfters sah ich Bilder, in denen die einzelnen Kerne so vergrößert, ihre Chromatininseln so auseinandergezerrt waren, daß die einzelnen Kerne sich nur schwer gegeneinander abgrenzen ließen, so daß ich wieder eher an Kernverschmelzung ohne vorherige Auflösung — im Sinne TÖNNIGES' — zu glauben geneigt war. Die Schwierigkeit, zu einem Verständnis der Vorgänge zu gelangen, wurde noch durch mehrere Umstände vermehrt. Einmal fand ich fast stets größere und kleinere neu angeschlüpfte Individuen im selben Kaulquappendarm durcheinander, so daß ich meinte, die Versuchstiere müßten schon vorher infiziert gewesen sein; das mag ja wohl oft zutreffend gewesen sein, mußte aber, wie wir sehen werden, keineswegs mit Notwendigkeit aus dem erwähnten Befund gefolgert werden. Ich vergeudete also zunächst viel Zeit und Arbeit damit, mir sicher parasitenfreies Ausgangsmaterial zu verschaffen, zunächst durch Anzucht von Froschlärven aus Laich, dann aus künstlich befruchteten, aus frisch abgetöteten Fröschen entnommenen Eiern, um schließlich vor derselben Erscheinung zu stehen. Sodann schlüpfen mir regelmäßig die Opalinen vielkernig aus vielkernigen Cysten aus, was ja nach meiner vorgefaßten Meinung nicht geschehen durfte. Ich glaubte also zunächst, die Kerne hätten sich schon geteilt, und suchte durch beständiges Verkürzen der Zeit zwischen Infektion und Untersuchung die einkernigen Individuen zu finden. Als auch dies nicht zu dem erwarteten Resultat führte, hielt ich mich an die Bemerkung ZELLER's (p. 361 f.):

„Nicht gerade selten geschieht es, daß die Tierchen noch mit den ursprünglichen mehrfachen Kernen ihre Cysten verlassen, und daß erst im Verlaufe der nächsten Tage der einfache Kern sich

bildet. Dies scheint mir hauptsächlich dann der Fall zu sein, wenn die Opalinencysten nicht schon längere Zeit im Wasser gelegen haben, sondern sowie sie aus dem Mastdarm eines erwachsenen Frosches kommen, auch rasch in eine Kaulquappe übergeführt werden.“ Auch diesem Fehler suchte ich vorzubeugen durch Liegenlassen der Cysten im Wasser bis zur Grenze des Zulässigen — wieder ohne das gewünschte Resultat. Wie ZELLER zu dieser Ansicht gekommen sein mag, weiß ich nicht; es wird wohl nur ein zufälliges Zusammentreffen gewesen sein. Ein anderer verwirrender Übelstand ergibt sich tatsächlich durch den von ZELLER gerügten Fehler. Läßt man die Cysten nach ihrer Entleerung aus dem Froschdarm nicht lange genug im Wasser liegen, daß sie hier den oben beschriebenen und in Fig. 17—20 abgebildeten Prozeß der Ausstoßung der zweiten Chromatinkappe vollenden können, so tritt er erst im Kaulquappendarm auf, wobei er sich mit dem eben erwähnten Prozeß der Kernauflockerung verbindet. Man findet dann in den ausschlüpfenden und frisch angeschlüpften Tieren Kerne, wie sie in den Fig. 22, 26, 27 abgebildet sind.

Obgleich nun dieser Vorgang sich auch in der Natur unter normalen Verhältnissen oft genug abspielen mag, sobald eben Kaulquappen über frisch entleerten cystenhaltigen Froschkot geraten, werde ich doch der besseren Übersichtlichkeit halber diesen Prozeß als eine Anomalie behandeln und als Verfütterung unreifer Cysten dem normalen Vorgang, der Infektion durch reife Cysten (siehe oben p. 19) gegenüberstellen. Im Schema (Taf. I) habe ich demgemäß nur den normalen Verlauf dargestellt, bei dem also Fig. 9 unbedingt im Wasser, außerhalb des Wirtstieres, auftritt.

Über diesen Schwierigkeiten und Versuchen war mir der Frühling 1905 dahingegangen. Nach Ablauf der Fortpflanzungsperiode von *Rana temporaria* resp. *Opalina ranarum* hatte ich mich zur Beobachtung von *O. dimidiata* gewendet, ohne ein anderes Resultat zu erzielen als die Erkenntnis, daß die bisher geschilderten Vorgänge auch bei dieser Art ebenso verlaufen wie bei *O. ranarum*.

Im Laufe des heurigen Frühjahrs war ich anfangs durch Krankheit an weiterer Beobachtung verhindert, so daß ich erst gegen Ende der Fortpflanzungszeit von *O. dimidiata* die Arbeit wieder in Angriff nehmen konnte.

Und nun gelang es mir gleich durch einen glücklichen, fast zufälligen Fund das Rätsel zu lösen und den Zeugungskreis zu schließen. Herr Dr. PRANDTL hatte mir Ende Juni in liebenswürdiger Weise eine Anzahl Kaulquappen von *Rana esculenta* überlassen, die ich

infizieren wollte. Um mich zu überzeugen, ob sie schon infiziert wären, untersuchte ich zunächst eine und fand ihren Mastdarm bereits mit einer Unzahl junger Opalinen angefüllt. Unter diesen fand ich sofort die in Taf. III Fig. 39 dargestellten Copulationsstadien sowie einige Teilungsstadien, wie sie in Fig. 32 wiedergegeben sind. Offenbar hatten sich die Kaulquappen vor ganz kurzer Zeit infiziert. Selbstverständlich tötete ich nun eine Anzahl von Tieren ab und stellte mit den übrigen Infektionsversuche an. Als ich hier bei *O. dimidiata* zu einem Verständnis der Vorgänge im Kaulquappendarm gelangt war, wurde es mir auch möglich, in den Präparaten von *O. ranarum*, die ich noch vom vorigen Frühjahr her hatte, eine Anzahl in den Cyklus passender Stadien zu finden. Es gehört hierzu ein sehr großes Material, da die entscheidenden Prozesse sich offenbar außerordentlich rasch abspielen.

Ich beginne nun die fraglichen Vorgänge der Reihe nach zu schildern. Die oben beschriebene Auflockerung der Cystenkerne ist nicht, wie ich zuerst dachte, ein Vorbote der Kernauflösung oder Kernverschmelzung, sondern dieser Vorgang leitet offenbar die Bildung der Befruchtungsspindel ein. Man findet solche Kerne fast immer bei ausgeschlüpfenden und ausgeschlüpfen Tieren. Nur selten findet man Kerne in diesen Stadien, wie sie Taf. III Fig. 24¹⁾ zeigt: die Kernauflockerung hat noch nicht begonnen; offenbar ist die Cyste etwas verfrüht oder direkt nach der Ausstoßung der zweiten Chromatinkappe von der Froschlarve aufgenommen worden.²⁾ Häufiger, wie gesagt, findet man „verfrüht“ ausgeschlüpfte Tiere, siehe Taf. III Fig. 22, 26, 27.

Das Ausschlüpfen selbst habe ich einige Male beobachten können, allerdings nicht den ersten Anfang, die Durchbrechung der Cystenhülle; diese war in allen Fällen schon erfolgt, so daß ich über die Art dieses Vorganges nichts mitteilen kann. Taf. III Fig. 23 zeigt zwei Stadien des Ausschlüpfens von *O. dimidiata*, die etwa 10 Minuten auseinander liegen. Hat das Tierchen ein Ende aus der durchbrochenen Cystenhülle herausgestreckt, so beginnt es außerordentlich lebhaft mit den Wimpern zu arbeiten; zunächst jedoch längere Zeit, ohne erhebliche Fortschritte zu machen. Offenbar be-

¹⁾ Alle Stadien von *O. dimidiata* sind, wie auch die erwachsenen Tiere, viel länger und schlanker als die von *O. ranarum*.

²⁾ Um den Zustand der Kerne in dieser Figur zu erklären, muß wohl außerdem noch angenommen werden, daß das Ausschlüpfen aus der Cyste in diesem Fall ganz besonders rasch erfolgt ist.

reitet es ihm große Schwierigkeiten, sich aus seiner zusammengerollten Stellung zu befreien. Oft zieht es sich wieder zurück, dreht sich mehrfach in der Cyste um sich selbst, streckt wieder das gleiche Ende heraus und wiederholt dies Spiel mehrere Male, bis es mit einem plötzlichen Ruck einen weiteren Teil des Körpers durch die verhältnismäßig enge Öffnung hervorpreßt, wobei es sich als außerordentlich metabol erweist.

Auch die schon außerhalb der Cyste befindlichen Teile rollen sich oft noch spiral ein und wieder auseinander, die Cilienbewegung wird ganz exzessiv lebhaft, kurz, man hat den Eindruck, daß das Tierchen sich ganz außerordentlich anstrengen muß, um seine Freiheit zu gewinnen. Ist dies endlich geschehen, so streckt es sich gerade, wie in Fig. 24, und schwimmt sehr rasch davon, um gewöhnlich sofort im dichtesten Haufen der durcheinander sich drängenden Genossen zu verschwinden. Gefärbte Präparate von ausgeschlüpfenden Tieren sieht man nicht selten (siehe Taf. III Fig. 22); doch liegt da ja meist der Verdacht nahe, daß es sich um Cysten handelt, die bei der Anfertigung des Präparates zerquetscht wurden. LÖWENTHAL sagt (l. c. p. 389 f.): „Dagegen sah ich nicht so ganz selten drei- und zweikernige Cysten, bei denen durch ein Loch in der Wandung ein Protoplasmapropf hinausragte und ein in die Länge gezeirrter Kern nach diesem Loch hinstrebte.“ Er bringt diese Bilder vermutungsweise in Zusammenhang mit dem Einkernigwerden der Cysten. Nach meiner Ansicht handelt es sich ganz selbstverständlich nur um ausschüpfende Tiere oder um die Resultate von Quetschungen (welch letztere Möglichkeit er selbst offen läßt). LÖWENTHAL wäre jedenfalls gar nicht auf die oben erwähnte Idee verfallen, wenn er nicht, ebenso wie ich, unbedingt einen Modus hätte finden wollen, wie die vielkernige Cyste einkernig wird. Nachträglich ist es mir übrigens oft kaum begreiflich, wie sich alle Beobachter¹⁾ so fest in den von ENGELMANN unschuldigerweise inaugurierten Irrtum verbeißen konnten, daß sie überhaupt nur in dieser Richtung suchten. Man bedenke nur, daß in jedem Präparat, das ich untersuchte, ohne Ausnahme (und bei den anderen Beobachtern sicherlich auch!) weitaus der größte Teil der freien kleinen Opalinen mehrkernig war. Natürlich schob ich dies auf nachträgliche Kernteilung in den ursprünglich einkernigen Individuen, und in den Fällen, wo ich nicht das Gegenteil sicher wußte, auf frühere Infektion. Heute weiß ich übrigens (wenn anderes die wenigen dies-

¹⁾ Ich selbst natürlich nicht am wenigsten.

bezüglichen Beobachtungen nicht auf einen Zufall zurückzuführen sind), daß man die Kaulquappen nur etwa 3 Tage hungern zu lassen braucht, um sie parasitenfrei wiederzufinden. Dieselbe Beobachtung scheint auch ZELLER gemacht zu haben (vgl. l. c. p. 362).

Doch kehren wir zu den frisch ausgeschlüpften mehrkernigen Opalinen zurück. Ein fünfkerniges Individuum, das ich nach dem Anschlüpfen im Auge behalten konnte, begann etwa nach $\frac{1}{4}$ Stunde sich quer zu teilen (Taf. III Fig. 28). Leider starben die Teilstücke bald danach ab. Jedoch sah ich ähnliche Teilungen dann häufiger, und konnte sie in den gefärbten Präparaten auch mehrfach wiederfinden (Taf. III Fig. 29, 30). An den Größenverhältnissen erkennt man nun auch leicht die Resultate dieser erstmaligen Teilung (Taf. III Fig. 31). Auf diese und die folgenden Zellteilungen, d. h. auf die Gametenbildung, bezieht sich jedenfalls die Mitteilung von TÖNNIGES (1899), daß auf die Conjugation folgend „eine lebhaft Vermehrung der jungen Opalinen beginne“. Er hat nur die Reihenfolge der beiden Vorgänge gerade umgekehrt kombiniert.

Die Gametenbildung.

Die Zahl der Zellteilungen, die ein Individuum nach dem Verlassen der Cystenhülle durchzumachen hat, richtet sich natürlich ganz nach der Anzahl seiner Kerne. Wie auch sonst bei den Opalinen, findet man auch hier Quer- und Längsteilungen; nur scheinen die ersteren mehr bei den größeren, noch mehrkernigen, die letzteren bei den kleineren wenigkernigen Individuen vorzukommen. Mit ziemlicher Regelmäßigkeit offenbar entstehen die Endprodukte dieser Reihe von Teilungen, die einkernigen Gameten, durch Längsteilung. Mehrfach konnte ich diesen Vorgang am lebenden Tier verfolgen (Taf. III Fig. 32 a—d); einzelne Stadien sah ich ziemlich häufig. Fig. 29 zeigt eine Ausnahme: hier liegt eine Querteilung vor, die ein einkerniges Teilstück liefern wird. Daß dies bei dreikernigen Individuen nicht immer so zu verlaufen braucht, scheint mir Fig. 33 zu beweisen. Ich konnte das merkwürdige Teilungsstadium, bei dem sich die eine Hälfte noch vor Vollendung des Prozesses schon wieder längs zu spalten beginnt, eine Zeitlang beobachten, leider ohne die Kerne erkennen zu können. Aber ich kann es nicht anders deuten, wie als dreikerniges Individuum, dessen rechte Hälfte einen, die linke zwei Kerne mitbekommt. Es wäre also ein Stadium, das vollständig dem in Fig. 34 dargestellten entspricht: nur daß die nächste Längsteilung, die auch das zweikernige Stück in zwei einkernige Gameten spalten soll, hier etwas verfrüht

einsetzt. Lebend sah ich nur Gameten, denen man es gleich ansah, daß sie ihr Dasein einer Längsteilung verdankten, und zwar nur solche von *O. dimidiata*. Sie sind, wie alle anderen freischwimmenden Stadien dieser Art außerordentlich langgestreckt.¹⁾ Nach dem Hinterende zu verjüngen sie sich stark und ziehen sich in eine feine, oft sehr lange Spitze ans. Ihre Länge beträgt 30—40 μ ; die von *O. ranarum*, die ich nur gefärbt gesehen habe, sind nur etwa halb so lang, dafür aber viel breiter (Taf. III Fig. 38). Die lebenden Gameten von *O. dimidiata* sind äußerst charakteristisch und nicht leicht mit einem anderen Stadium zu verwechseln, höchstens mit zweikernigen Gametocyten, die aber natürlich merklich größer sind. Auffallend ist an ihnen die geringe Zahl von Cilien, die in weiten Abständen gleichmäßig über das Tierchen verteilt sind. Der Kern ist langgestreckt, oft direkt spindelförmig geworden (Taf. III Fig. 36). Seine Struktur ist infolge der geringen Färbbarkeit leider meist kaum zu erkennen, wie dies schon vorher bei den letzten Teilungen der Gametocyten der Fall war (Taf. III Fig. 34, 35). Im ganzen ist er sehr chromatinarm; nur selten ist ein nucleolusartiges Gebilde in ihm zu finden. Kernteilungen kommen von der Encystierung bis zur Copulation nie vor. Plasmaeinschlüsse finden sich, außer den gewöhnlichen Granulationen des Entoplasmas, selten; ab und zu sieht man im Innern einige stark lichtbrechende verschiedene große Kügelchen, die sich dann in den jungen Agamonten immer häufiger finden. Auch der allgemeine Habitus der Gameten (und kleineren Gametocyten) ist sehr charakteristisch. Sie sind ganz platt; ein breiter Saum festeren hyalinen Ectoplasmas umgibt das graunlierte, offenbar flüssigere Entoplasma, so daß dieser Umstand, zusammen mit ihrer Form und Bewegungsweise, ihnen eine auffallende Ähnlichkeit mit großen Trypanosomen verleiht. Wie ich schon in meiner vorläufigen Mitteilung erwähnte, wird diese Ähnlichkeit noch unterstrichen durch das gelegentliche Vorkommen von Agglomerationen



Fig. A. Agglomerationstern von Gameten von *O. dimid.*
Skizze nach dem Leben.

¹⁾ Einen typischen Gameten bildet ENGELMANN (1875) in seiner Taf. V Fig. 3, 4 nach dem Leben ab. Auch LÉGER u. DUBOSCQ (1904b) bilden in ihrer Fig. 8 von *O. saturnalis* einen typischen Gameten nach einem Eisenhämatoxylin-Präparat ab, der auch den mir aufgefallenen schwachen Cilienbesatz zeigt. Er sieht genau aus wie ein Gamet von *O. dimidiata*, nur ist sein Kern gut gefärbt.

(siehe Textfig. A). Besonders in den Partien von Präparaten, in denen die Flüssigkeit ziemlich reich vom Darminhalt der Kaulquappe geblieben ist, findet man häufiger solche Rosetten. Die Agglomeration scheint mir stets ein sicherer Vorbote des Absterbens der betreffenden Form zu sein; ein Präparat, in dem diese Rosetten auftreten, kann man ruhig wegwerfen, da sich keine normalen ungestörten Prozesse mehr darin abspielen werden. Auch zweikernige Gametocyten und junge Agamonten scheinen an diesem Vorgang teilnehmen zu können.



Fig. B. Anormale Teilungen („Knospungen“) bei der Gameteubildung von *O. dimidi*. Skizzen nach dem Leben.

Bei der Gametenbildung sieht man nicht selten anormale Formen, wie sie in beistehender Abbildung skizziert sind. Sie erinnern fast an Knospungen; es wäre möglich, daß TÖNNIGES, der vom Vorkommen von Knospungen spricht, solche Stadien vor Augen gehabt hat. Vielleicht sind sie so zu erklären, daß ein Geschlechtskern mit der zugehörigen Protoplasma-region verfrüht, noch vor Ablauf der Zellteilungen, die eigentlich voraufgehen sollten, seine Selbständigkeit erlangt und sich vom Gametocyten löst. Da mir gefärbte Präparate von solchen Stadien nicht vorliegen, kann ich nichts Sicheres darüber mitteilen. Ob aus diesen vermeintlichen Knospungen lebensfähige Produkte hervorgehen, weiß ich nicht.

Die Copulation.

Wie bei dem Bildungsmodus der Gameten zu erwarten, zeigen sie immerhin merkbare Größendifferenzen. Jedoch müssen sie auf jeden Fall als Isogameten bezeichnet werden. In einigen günstigen Fällen sah ich sie in sehr großer Zahl in einem Präparat lebhaft herumschwimmen. Vielleicht infolge ihres spärlichen Cilienbesatzes sind sie sehr leicht in ihren Bewegungen zu beeinflussen; größere Agamonten und Gametocyten, Rotatorien usw. wirken schon auf ziemlich weite Entfernung so auf sie ein, daß sie anscheinend willenlos herumgetrieben werden. Besonders eben im Ausschlüpfen aus der

Infektionscyste begriffene Gametocyten, die ja sehr heftig mit den Cilien arbeiten, wirken in dieser Weise auf sie ein, so daß man sie oft in auffallender Weise von einem oder mehreren Gameten umschwärmt findet. Wo jedoch solche Störungen nicht wirken, bewegen sie sich sehr geschickt. Öfters sah ich sie paarweise, wie spielend, miteinander umherschwimmen, wie wenn sie voneinander (chemotaktisch?) angelockt würden. Beim Schwimmen bewegen sie sich stets mit dem breiteren Ende nach vorn.

Den Vorgang der Copulation im Zusammenhang zu beobachten, gelang mir nur einmal. Ich habe ihn in Taf. III Fig. 39a, b, c in nach dem Leben angefertigten Skizzen dargestellt. Häufiger sah ich das Stadium der Fig. 39a, in dem die beiden Tierchen sich mit den Vorderenden gegeneinander legen und langsam in gleichem Sinne um ihre Längsachsen rotieren, wobei es aussieht, als ob sie stark gegeneinander drückten. In diesem Stadium können sie ziemlich lange auf einem Fleck verharren. In dem erwähnten Fall klappten sie dann ziemlich plötzlich scherenartig zusammen, so daß das in Fig. 39b dargestellte Bild entsteht, und schwammen dann langsam fort. Während des Schimmens nähern sich dann die Seitenränder immer mehr und verschmelzen allmählich immer weiter von vorn nach hinten (Fig. 39 c, d) bis einheitliche Individuen mit zwei getrennten Schwänzchen entstehen. Bis hierher nahm der Vorgang in meinem Falle etwas über eine halbe Stunde in Anspruch. Mit Längsteilungsstadien können solche Individuen, die ich öfters fand, nicht verwechselt werden, da sich bei diesen immer die breiten Vorderenden zuerst voneinander trennen. Die Kerne sind bei diesen Copulationsstadien nur unendlich zu erkennen; man sieht, daß sie spindelförmig geworden sind und mit zunehmender Verschmelzung der beiden Gameten sich einander immer mehr nähern. Gefärbte Präparate derartiger Stadien fand ich nicht sogar selten, jedoch waren hier infolge der schon erwähnten mangelhaften Technik die Kerne meist auch nicht besser zu erkennen als am lebenden Objekt. Taf. III Fig. 40 stellt ein Stadium mit etwas distinkter gefärbten Kernen dar, das man eventuell auch für ein Längsteilungsstadium (letzte Phase der Gametenbildung) halten könnte, das ich aber wegen der bereits typisch spindelförmig gewordenen Kerne mit Bestimmtheit für ein frühes Copulationsstadium halte, deren beide Individuen beim Abtöten noch Zeit gefunden haben, sich zur Birnform zu kontrahieren. Ist die Verschmelzung perfekt geworden, so nimmt die Zygote rasch die in Fig. 42 dargestellte Birnform an, wobei die Cilien verschwinden. Am längsten bleiben einige Wimpern noch

am spitzen Ende erkennbar, doch ist die Zygote bereits unbeweglich geworden. Die beiden Befruchtungsspindeln sind sich in solchen Formen meist bis zur Berührung nahe gerückt. Fig. 41 zeigt eine solche Zygote, deren Kerne offenbar im Begriff sind, zu verschmelzen. In diesem Stadium verharret die Copula meist längere Zeit; man findet sie verhältnismäßig recht häufig, vielfach im dichtesten Gewühl noch oder wieder frei beweglicher Formen, wo sie rastlos hin und her gestoßen und gedreht wird.¹⁾ Ganz allmählich geht nun, nach Verlust auch der letzten Cilien, die Birnform in die volle Kugelform über. In diesem Stadium tritt an der Zygote eine feine charakteristische Streifung auf, die annähernd konzentrisch der Peripherie verläuft, jedoch nicht überall gleichmäßig ist, sondern an der einen oder anderen Seite deutlicher hervortritt, so daß das Bild einer Längsstreifung entsteht (Taf. III Fig. 43). Vergleicht man hiermit die Bemerkung ZELLER's (S. 360): „Eine Längsstreifung des Körpers aber, welche ENGELMANN annimmt, habe ich nicht gesehen, dagegen eine meistens sehr deutliche Faltenbildung, welche leicht für Längsstreifung angesehen werden kann“, so ist dies ein Beweis mehr für meine Ansicht, daß ENGELMANN im Kaulquappendarm gar nicht die Infektioncysten, sondern erst die Copulationscyste gesehen hat. ZELLER spricht hier nämlich von der Cyste des Froschdarms, also der Infektioncyste, und hat also seinerseits auch Recht.

Häufig fand ich auch in diesen Cystozygoten die Befruchtungsspindeln noch nicht vereinigt (Taf. III Fig. 43). Wo sie aber bereits verschmolzen sind, haben sie, wider Erwarten, nicht eine Teilungsspindel, sondern einen großen runden bläschenförmigen Kern gebildet, der ganz auffallend chromatinarm ist (Taf. III Fig. 44). Manchmal fand ich im Kern zwei etwas chromatinreichere Klümpchen, wie sie Fig. 44 zeigt, wohl die von ZELLER und TÖNNIGES erwähnten

¹⁾ Die von LEGER u. DUBOSQ (1904b) beschriebenen, aber nicht abgebildeten „formes immobiles et complètement chauves“ von *O. saturnalis* sind jedenfalls solche Zygoten. 1904a sprechen diese beiden Autoren von zwei Modi der Cystenbildung, die ich mir nicht anders erklären kann als dadurch, daß sie vielleicht anormales Material vor sich hatten.

Sie beschreiben für *O. ranarum*

1. „Kystes schizogoniques endogènes“, bei denen im erwachsenen Tier sich einige Kerne mit zugehörigem Plasmabezirk mit einer Cystenhülle umgeben und aus dem Tier herausfallen sollen,

2. „Kystes de conjugaison“, bei denen sich zwei Tiere (in welchem Stadium?) mit einer gemeinsamen Hülle umgeben sollen.

Die von COHN (1904) beschriebene und abgebildete Conjugation dürfte wohl sicher keiner echten Opalina angehören.

Nucleolen. Im Leben läßt die Cystozygote keine besondere, vom Zelleib gesonderte Cystenhülle erkennen; doch tritt bei Zusatz von verdünnter Essigsäure die in Fig. 43 eingezeichnete Membran sehr deutlich hervor. Der Zwischenraum zwischen ihr und dem Zelleib ist ganz wesentlich geringer wie der zwischen der eigentlichen Infektionscyste und ihrer äußeren Kontur. Die Größe der eigentlichen Cysten ist jedoch, wie ein Vergleich der Fig. 20 n. 44 zeigt, ziemlich genau gleich.

Auch diese Cyste verhält sich ganz wie die Infektionscyste, insofern das Tier anfangs keine Cilien zeigt und seine Hülle vollständig ausfüllt, später aber wieder in Windungen im Innern der Cystenhülle aufgerollt liegt und seinen Cilienbesatz deutlich erkennen läßt. So geben wenigstens ENGELMANN und ZELLER übereinstimmend an, und ich habe keinen Grund, die Richtigkeit dieser Angaben zu bezweifeln, wenn mir auch bei meinem geringen Material dieses Stadium nicht zu Gesicht gekommen ist. Auch den Akt des Auskühlens selbst habe ich nicht beobachtet. Jedoch fand ich häufig genug die jungen, noch einkernigen, also ganz frisch ausgeschlüpften Agamonten (Taf. III Fig. 45, 46, 47). Sie sind von den gleichfalls einkernigen Gameten leicht zu unterscheiden. Schon ihr dichter Cilienbesatz läßt sie sofort erkennen, ebenso ihre bedeutendere Größe und die Größe des Kerns (Syncaryons). Auch beginnen schon in diesen Formen die Kügelchen resp. scheibenförmigen Körperchen wieder reichlicher aufzutreten. Im Innern des Syncaryons bemerkt man oft den von ZELLER erwähnten „Nucleolus“ (siehe Fig. 47). Er kann auch wandständig gelagert sein (Fig. 46) oder, wie auch ZELLER angibt, in zwei bis mehrere Teile aufgelöst. Hierher gehört jedenfalls der in Fig. 45 dargestellte Kern, bei dem ein beträchtlicher Teil des Chromatins sich in Form von zwei wandständigen Kappen, ähnlich denen der noch unreifen Geschlechtskerne, differenziert hat. Auch hier wieder sind aber der oder die Nucleolen keineswegs konstante Gebilde. Man findet auch genng Kerne, die ganz wie die der älteren Agamonten gebaut sind.

Die jungen Agamonten der metagametischen Generation beginnen nun rasch heranzuwachsen. Zellteilungen konnte ich an ihnen nie feststellen, ebensowenig wie die früheren Autoren (abgesehen von der bereits erklärten unrichtigen Angabe TÖNNIGES'). ENGELMANN und ZELLER schildern übereinstimmend und richtig, wie sich bei fortgesetztem Wachstum der jungen Opalina die Kerne allmählich vermehren, bis die normalen großen Agamonten des Froschdarmes resultieren. Der Zeitpunkt der ersten Kernteilung ist nicht ganz

konstant; d. h. das Tier kann zu einer verhältnismäßig beträchtlichen Größe herangewachsen sein, ehe diese eintritt, oder das Syncaryon teilt sich schon sehr bald nach dem Ausschlüpfen der Cystozygote. Bald treten dann sehr lebhaft Kernteilungen auf (Fig. 51) in deren Verlauf die Kerne, wie auch schon ENGELMANN und ZELLER angeben, kleiner werden als das Syncaryon. Wie dann allmählich die normale Form und Größe des Agamonten erreicht wird, hat ZELLER für *O. ranarum* (l. c. p. 363 f.) ausführlich geschildert. Nur ganz am Anfang bieten die Kerne noch ein abweichendes Aussehen (Taf. III Fig. 49, 50); sie zeigen noch vielfach Nucleolen in wechselnder Anordnung (Fig. 50). Auch in der ersten Teilungsspindel sieht man oft noch Chromatin in größeren Gebilden verteilt (Fig. 49), während bei anderen Exemplaren (Fig. 48, 51) schon die ersten Kernteilungen ganz wie die übrigen Mitosen der agamogenen Generationen aussehen. Jedenfalls aber sind bei Stadien mit etwa vier Kernen derartige Bilder schon nicht mehr zu sehen; sie gleichen in jeder Beziehung bis auf die Größe, den alten Agamonten des Froschdarmes. Auch die normale Menge von Kügelchen und scheibenförmigen Körperchen ist dann schon wieder erreicht (Fig. 52).

Aus dem geschilderten Verhalten der „Nucleolen“, das mir ganz unregelmäßig zu sein schien, in das sich aber bei Untersuchung sehr reichlichen Materials vielleicht doch auch Gesetzmäßigkeit bringen ließe, möchte ich den Schluß ziehen, daß wir es hier mit Chromatin zu tun haben, das in dieser Form in die Kerne der Agamonten eigentlich nicht hineingehört. Ich habe oben die Meinung ausgesprochen, daß das zur Chromidien- resp. Sporetienbildung austretende Chromatin in den Kernen vorher bereits vorhanden, aber färbereich nicht nachweisbar war. Mir scheint nun die Meinung wohl diskutabel, daß die in den Kernen und Kernspindeln der Gameten, Zygoten und ganz jungen Agamonten so auffällig und scheinbar regellos auftretende und verschwindende chromatische Substanz eben dieses Material darstellt, das erst gewisse, noch nicht näher zu präzisierende Umlagerungen und Umwandlungen innerhalb des Kernes durchzumachen hätte, bevor es im Kern in einer für uns zurzeit nicht nachweisbaren Form ruht, um eben erst bei der Chromidienbildung wieder in Erscheinung zu treten.

Ich habe nun noch auf den oben beschriebenen und Taf. II Fig. 11—20 dargestellten auffallenden Prozeß zurückzukommen, auf die zweimalige Ausstoßung der Chromatinkappen der neugebildeten Geschlechtskerne. Wenn man das weitere Schicksal dieser Kerne

kennt, so drängt sich vor allem die Vermutung auf, die ich durch die Anwendung der Ausdrücke „reife“ und „unreife“ Cysten schon angedeutet habe: daß es sich hier um Reifungsvorgänge handelt, die der Richtungskörperbildung der Eier zu vergleichen sind.

Reifungs- und Reduktionserscheinungen sind ja bei Protozoen nichts Unerhörtes mehr; es handelt sich nur darum, ob es statthaft ist, den beschriebenen merkwürdigen Modus der Chromatinausstoßung mit den gewöhnlich caryokinetisch verlaufenden Reifeteilungen zu vergleichen. SCHAUDINN stellte ohne Bedenken die bei den Macrogameten von *Coccidium schubergi* stattfindende Ausstoßung des Caryosoms aus dem Kern und die damit verbundene Verminderung des Chromatingehaltes den Reifeteilungen der Metazoen-eier an die Seite. Er und seine Schule haben auch späterhin konsequent Verminderungen der Kernmasse bei den Gametocyten von Trypanosomen und anderen Protozoen als „Reduktion“ bezeichnet, ohne daß deshalb die betreffenden Vorgänge sich als typische Mitosen darzustellen brauchten.¹⁾

Gewiß würden also diese Forscher kein Bedenken getragen haben, die von mir beschriebenen Vorgänge an den Geschlechtskernen der Opalinen als Reduktionsteilungen in Anspruch zu nehmen. Ich selbst kann auch keineswegs in dem Fehlen der typischen Caryokinese ein schwerwiegendes Argument gegen diese Deutung erblicken. Denn wenn wir auch in dem komplizierten Apparat der Caryokinese ein Mittel zu erblicken pflegen, das eine peinlich genaue Verteilung des Chromatins auf zwei gleiche Hälften gewährleistet, so ist damit doch durchaus nicht gesagt, daß die bei niederen Organismen häufigen amitotischen Kernteilungen nicht dasselbe Resultat, wenigstens annähernd, erreichen. Es sind ja auch die von mir und anderen als Mitosen beschriebenen Kernteilungen der Opalinen noch weit entfernt, der typischen Caryokinese zu gleichen. Abgesehen von dem Fehlen der Centrosome, ist es auch nicht gelungen, eine Spaltung der Chromosome nachzuweisen; ich glaube auch, daß eine solche gar nicht stattfindet, sondern eher, daß sie sich gleich in ihrer vollen Zahl, d. h. 24 bei den Kernen der Agamonten, 48 bei den unreifen Gamontenkernen, aus dem Spirem sondern und gleichmäßig auf die beiden Spindelpole verteilen. Auch gehen ja in vielen Fällen noch größere oder kleinere Chromatinteile in die Spindel ein, ohne sich zu Chromosomen umzuwandeln. Auch der Umstand, daß die Chromatinausstoßung, wie die echte Reifeteilung der Geschlechtskerne z. B.

¹⁾ Siehe auch LÉGER 1904 p. 332/33, PROWAZEK 1902 p. 298 f. u. s.

bei Metazoen, zweimal hintereinander erfolgt, spricht für meine Annahme. Jedenfalls gewinnt der Vorgang hier schon eine höhere Ähnlichkeit mit echten Reifungsvorgängen, wie bei *Coccidium schubergi*.

Ausschlaggebend aber für die Beurteilung seiner Bedeutung sind die Folgen des Vorganges. Um kurz zu rekapitulieren: Die Agamontenkerne zeigen bei der Teilung an jedem Spindelpole 12 Chromosome, die neugebildeten Geschlechtskerne je 24. Nach der zweimaligen Ausstoßung der Chromatinkappen teilen sie sich nicht mehr, sondern je zwei vereinigen sich zum Syncaryon. Die Teilspindeln, die dieses und seine Abkömmlinge bilden, sind aber genau so gebaut, wie die in Fig. 3 abgebildeten Spindeln der Agamonten. Wenn es mir auch nicht gelang, hier die Chromosomenzahl sicher festzustellen, so kann ich doch soviel mit Bestimmtheit behaupten, daß sie nicht 24 überhaupt nicht erheblich mehr betragen kann als 12 an jedem Pole. Die Chromosomenzahl ist ja bei den Opalinen überhaupt außerordentlich schwer festzustellen. Nachdem dies aber einmal geglückt ist, genügt die Betrachtung der Spindelform vollständig, um festzustellen, daß dies dieselben Spindeln sind wie die der Agamonten. Die jungen ausgeschlüpften Zygoten werden ja auch direkt wieder zu Agamonten. Daß die erste, eventuell auch die zweite Teilungsspindel durch eingelagerte Chromatinteile ein abweichendes Aussehen gewinnt, ändert hieran nichts. Wie sich dies Verhalten vielleicht erklären läßt, habe ich schon oben erörtert; außerdem ist es ja keineswegs konstant, sondern man findet in denselben Stadien auch ganz normal aussehende Spindeln (vgl. Fig. 48).

Bedauerlich ist es, daß die mir vorliegenden Befruchtungsspindeln keine Chromosome erkennen ließen. Jedoch läßt sich ihr Wert aus den bekannten Tatsachen leicht berechnen: er kann nur sechs Chromosome auf den Pol betragen, wenn das Syncaryon wieder die normale Chromosomenzahl der Agamontenkerne enthalten soll.

Wir haben demnach den höchst eigenartigen Fall vor uns, daß jeder Geschlechtskern zunächst die doppelte Normalzahl enthält, die darauf durch zwei aufeinander folgende echte Reduktionsteilungen auf ein Viertel, d. h. die halbe Normalzahl herabgesetzt wird. Diese Annahme, so einzigartig sie auch im Tierreich dasteht, scheint mir wenigstens immer noch wahrscheinlicher, als die andere Möglichkeit, nämlich daß nur eine der Reifungsteilungen eine Reduktion der Chromosomenzahl bewirkt, während die andere, überschüssige Hälfte (oder besser Viertel) diejenige chromatische Substanz darstellt, die im Kern unsichtbar wird und erst bei der Chromidienbildung wieder in Erscheinung tritt.

Schluß.

Der Zeugungskreis der Opalinen ist mit dem Herauwachsen der ausgeschlüpften Zygote zum Agamonten geschlossen. Überblicken wir ihn noch einmal knrz, etwa nach dem auf Taf. I dargestellten Schema, so sehen wir sofort, wie weit er sich in jeder Hinsicht von den für die Ciliophoren bekannten Erscheinungen entfernt. Der Übersichtlichkeit halber habe ich die agamogene und die gamogene Generation in Form zweier Kreise ineinander gezeichnet und die Stadien der ersteren mit großen Buchstaben, die der letzteren mit Ziffern bezeichnet. Die mit 1 und A bezeichnete Figur erweist sich demnach als der Ausgangspunkt für beide Kreise; d. h. man kann es von vornherein den großen Individuen des Froschdarmes nicht ansehen, ob sie Agamonten oder Gamonten den Ursprung geben werden. Natürlich ist diese Figur, wie auch die übrigen Agamonten, im Verhältnis etwa zn den in Fig. 7—17 dargestellten Stadien weitans zu klein gezeichnet und mit viel zn wenig Kernen versehen. Fig. A, B, C, D stellen die agamogenen Individuen dar, die sich durch abwechselnde Längs- und Querteilung fast das ganze Jahr hindurch im Darm der Frösche vermehren und nach jeder Zellteilung erst wieder zu normaler Größe heranwachsen. Wieviele derartige Generationen aneinander folgen, kann ich nicht schätzen.

Fig. 2, 3 und 4 stellt zunächst die sukzessive Teilung der Individuen zu Beginn der gamogenen Fortpflanzungsperiode dar, bei welchen die Teilsprößlinge immer kleiner werden. Hiermit Hand in Hand geht die Bildung, Ausstoßung und Zerstäubung der Sporetien, während die Reservekerne sich noch nach dem Modus der Kerne der agamogenen Generationen teilen (Spindeln mit spitzen Polen und 12 Chromosomen an jedem Pol). Fig. 5 zeigt die ungebildeten Geschlechtskerne nebst Reservekernen, die dann bald verschwinden, Fig. 6 unreife Geschlechtskerne mit je zwei Chromatinkappen und die Teilung dieser Kerne (Spindeln mit runden Polen und 24 Chromosomen an jedem Pol). Fig. 7—9 zeigt die zwei aneinander folgenden Reifeteilungen. Nach der ersten folgt die Bildung der Infektionscyste. Fig. 10 zeigt das Ausschlüpfen des Gametocyten, 11, 12 die Gametenbildung, 13 die fertigen Isogamonten, 14 und 15 stellt die Copulation, 16 die Copulationscyste, 17 den frisch ausgeschlüpften und 18 den schon heranwachsenden Agamonten der ersten metagametischen Generation dar, der direkt wieder in die in Fig. A (1) abgebildete Form übergeht.

Wir haben also einen typischen Generationswechsel vor uns.

eine Anzahl agamogenetischer Generationen gesetzmäßig mit einer gamogenetischen abwechselnd. Ich brauche nicht näher anzuführen, wie sehr der ganze Entwicklungszyklus von *Opalina* dem von verschiedenen Plasmodromen ähnelt. Wenn wir die Infektionscyste ausschalten, die ja an jeden anderen Punkt des Kreises versetzt werden könnte, so haben wir hier einen vollständig typischen Plasmodromen-Zeugungskreis vor uns (vgl. z. B. SCHAUDINN 1903). Es ist nun natürlich sozusagen nur noch Geschmackssache, ob man den Zeugungskreis als maßgebend für die systematische Stellung der Opaliniden ansehen will und sie demgemäß unter die Plasmodromen aufnimmt, oder ob man dem einzigen, allerdings auffallendsten Merkmal, das sie mit den Ciliophoren teilen, dem Besitze von Cilien, entscheidenden Wert zubilligt und sie in dieser Gruppe belassen will. Im letzteren Falle sind aber gewiß die Unterschiede, die sie von allen ¹⁾ übrigen Vertretern der Gruppe trennen, so groß, daß sie die Anstellung einer den Klassen der Ciliaten und Suctorien gegenüberstehenden neuen Klasse rechtfertigen würden.

Mir selbst erscheint der Wert dieses Merkmals in Übereinstimmung mit DOFLEIN (1902) nicht so wesentlich. Betreffs dieses Punktes verweise ich auf DOFLEIN'S Ausführungen (l. c. p. 172 ff.).

Nach meiner Überzeugung hätten wir also in den Opalinen sehr abgeänderte Vertreter der großen Gruppe der Plasmodromen zu sehen. Eine Erörterung darüber, welcher Ordnung der Plasmodromen, ja sogar welcher Klasse sie einzureihen, resp. anzuschließen wären, würde bei dem derzeitigen Stand unserer Kenntnisse von den Verwandtschaftsverhältnissen der Protozoen durchaus müßig sein.

Vielleicht würde eine genaue Untersuchung des Zeugungskreises der zweikernigen Formen, *O. caudata* [ZELLER] und *O. (Anoplophrya) intestinalis* [STEIN], (*similis* [ZELLER]) aus *Bombinator* wesentlich zum Verständnis der hier beschriebenen Tatsachen beitragen; ferner wäre jedenfalls von größtem Interesse eine Bearbeitung der von LÉGER u. DUBOSCQ beschriebenen *Opalina saturnalis* aus *Box boops*, die in manchen Stadien wenigstens eine äußere Ähnlichkeit mit *Lophomonas*-Arten aufzuweisen scheint.

Ob die in Cephalopoden schmarotzenden Infusorien *Opalinopsis* und *Chromidina* überhaupt in die nähere Verwandtschaft der echten Opalinen gehören, ist zurzeit noch eine offene Frage. Der Nachweis

¹⁾ Die Ansicht ZELLER'S, daß die Fortpflanzung von *Nyctotherus* ganz der von *O.* entspreche, ist natürlich nicht richtig. Es findet sich nur Übertragung durch Cysten. *N.* verhält sich ganz wie ein echtes Ciliat.

- CLAPARÈDE, E. (1861): Etudes anatomiques sur les Annélides, Turbellariés, Opalines et Grégaires observés dans les Hébrides. *Mém. Soc. de physique et d'hist. natur. Genève* V. 16.
- CLAPARÈDE, E. et LACHMANN, J. (1858/59): Etudes sur les Infusoires et les Rhizopodes. in: *Mém. Inst. nat. Genevois* V. 6.
- COHN, L. (1904): Zwei parasitische Infusorien aus *Discoglossus pictus*. in: *Arch. f. Protistenk.* V. 4.
- CONTE, A. et VANRY, C. (1902): Sur des émissions nucléaires observées chez des protozoaires. in: *Compt. rend. Acad. Sc. Paris* V. 135.
- CUÉNOT, L. (1897): Evolution des Grégaires coelomiques du Grillon domestique. in: *Compt. rend. Acad. Sc. Paris* V. 125.
- (1901): Recherches sur l'évolution et la conjugaison des Grégaires. in: *Arch. d. Biol.* V. 17.
- DOPFLEIN, F. (1900): Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. IV. Zur Morphologie und Physiologie der Kern- und Zellteilung. in: *Zool. Jahrb., Abt. f. Anat.* V. 14.
- (1901): Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger. Jena 1901.
- (1902): Das System der Protozoen. in: *Arch. f. Protistenk.* V. 1.
- DRZEWIECKI, W. F. (1904): Über vegetative Vorgänge im Kern und Plasma der Gregarinen des Regenwurmbofens. in: *Arch. f. Protistenk.* V. 3.
- DUJARDIN, F. (1841): Histoire naturelle des Zoophytes Infusoires. Paris 1841.
- ENGELMANN, TH. W. (1875): Over Ontwikkeling en voortplanting van Infusoria. I. Ontwikkeling van *Opalina ranarum* binnen het darmkanaal van den kikvorsch. in: *Onderzoek. physiol. Laborat. Utrecht Hoogeschool derde Reeks* V. 3.
- (1876): Über Entwicklung und Fortpflanzung von Infusorien. I. Entwicklung und Fortpflanzung von *Opalina ranarum* innerhalb des Darmkanals von *Rana esculenta*. in: *Morphol. Jahrb.* V. 1.
- EVERTS, E. (1879): Bijdrag tot de Kennis der Opalinen uit het darmkanaal van Batrachiers. in: *Tijdschr. Nederl. Dierkund. Vereniging* V. 4.
- FAURÉ, E. (1904): Sur la structure du protoplasma chez les infusoires ciliés. in: *Compt. rend. Soc. biol. Paris* V. 57.
- FÖTTINGER, A. (1881): Recherches sur quelques infusoires nouveaux parasites des Céphalopodes. in: *Arch. de Biol.* V. 2.
- GOLDSCHMIDT, R. (1904a): Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebezellen. in: *Biol. Centralbl.* V. 24.
- (1904b): Die Chromidien der Protozoen. in: *Arch. f. Protistenk.* V. 5.
- (1904c): Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebezellen. in: *Zool. Jahrb., Abt. f. Anat.* V. 21.
- GONDER, R. (1904): Beiträge zur Kenntnis der Kernverhältnisse bei den in Cephalopoden schmarotzenden Infusorien. in: *Arch. f. Protistenk.* V. 5.
- GÖZE, J. A. E. (1787): Versuch einer Naturgeschichte der Eingeweidewürmer tierischer Körper. Leipzig 1787.
- GROS, G. (1850): Note sur le mode de génération et les transformations successives d'un animalcule que l'on rencontre chez les grenouilles. in: *Compt. rend. Acad. Sc. Paris* V. 31.
- HAEYMANN, M. (1904): Die Fortpflanzungsweisen der Organismen, Nebenbenennung und Einteilung derselben, erläutert an Protozoen, Völvoceen und Dicyemiden. in: *Biol. Centralbl.* V. 24.

- PFITZNER, W. (1886): Zur Kenntnis der Kernteilung bei den Protozoen. in: *Morphol. Jahrb.* V. 11.
- PRANDTL, H. (1905): Reduktion und Karyogamie bei Infusorien. in: *Biol. Centralbl.* V. 25.
- (1906): Die Konjugation von *Didinium nasutum* O. F. M. in: *Arch. f. Protistenk.* V. 7.
- PROWAZEK, S. (1902): Zur Entwicklung der Gregarinen. in: *Arch. f. Protistenk.* V. 1.
- (1903): Flagellatenstudien. in *Arch. f. Protistenk.* V. 2.
- (1904 a): Die Entwicklung von *Herpetomonas*. in: *Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte* V. 20.
- (1904 b): Untersuchungen über einige parasitische Flagellaten. *ibid.* V. 21.
- (1904 c): *Entamoeba buccalis* n. sp. *ibid.* V. 21.
- (1905): Studien über Säugetiertrypanosomen. *ibid.* V. 22.
- PURKINJE, E. u. VALENTIN, G. (1835): *De phenomeno generali et fundamentali motus vibratorii. Vratislaviae* 1835.
- RHUMBLER, L. (1895): Beiträge zur Kenntnis der Rhizopoden. in: *Zeitschr. f. wiss. Zool.* V. 61.
- (1898): Zelleib-, Schalen- und Kernverschmelzungen bei den Rhizopoden und deren wahrscheinliche Beziehungen zu phylogenetischen Vorstufen der Metazoenbefruchtung. in: *Biol. Centralbl.* V. 18.
- SCHAUDIN, F. (1894): Die Fortpflanzung der Foraminiferen und eine neue Art der Kernvermehrung. in: *Biol. Centralbl.* V. 14.
- (1895 a): Untersuchungen an Foraminiferen. I. *Calcituba polymorpha* Rosoz. in: *Zeitschr. f. wiss. Zool.* V. 59.
- (1895 b): Über den Dimorphismus der Foraminiferen. in: *Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Freunde Berlin* Jahrg. 1895.
- (1900): Untersuchungen über den Generationswechsel der Coccidien. in: *Zool. Jahrb., Abt. f. Anat.* V. 13.
- (1902): Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. I. *Bacillus bütschlii* n. sp. in: *Arch. f. Protistenk.* V. 1.
- (1903 a): *Idem.* II. *Bacillus sporonema* n. sp. in: *Arch. f. Protistenk.* V. 2.
- (1903 b): Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. in: *Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte* V. 19.
- (1904): Generations- und Wirtswechsel bei *Trypanosoma* und *Spirochaete*. *ibid.* V. 20.
- (1905): Neuere Forschungen über die Befruchtung bei Protozoen. in: *Verb. d. deutsch. zool. Ges. Breslau* 1905.
- SCHERL, C. (1899): Beiträge zur Fortpflanzung der Amöben. in: *Festschrift für C. v. KOPFER.* Jena 1899.
- SCHMIDT, O. (1846): Beiträge zur Anatomie und Physiologie der Naiden. in: *J. MÜLLER's Arch. f. Anat., Physiol. u. wiss. Med.* Jahrg. 1846.
- SCHNEIDER, ARNE (1885): Sur l'Anoplophrya circulans. in: *Compt. rend. Acad. Sc. Paris* V. 100.
- (1886): *Tablettes zoologiques.* V. 1. Poitiers 1885/86.
- SCHNEIDER, K. C. (1905): Plasmastruktur und Bewegung bei Protozoen und Pflanzenzellen. in: *Arb. a. d. Zool. Inst. Wien* V. 16.
- SCHOUTEDEN, H. (1905): Längsteilung bei *Opalina raucarum*. in: *Zool. Anz.* V. 28.
- SCHULTZE, M. (1851): Beiträge zur Naturgeschichte der Turbellarien. Greifswald 1851.

- SIBBOLD, C. TH. V. (1848): Lehrbuch der vergleichenden Anatomie der wirbellosen Tiere. Berlin 1848.
- SIEDLECKI, M. (1898): Etude cytologique et cycle evolutif de la coccidie de la seiche. in: Ann. d. l'Inst. Pasteur Jahrg. 1898.
- (1902): L'Herpetophrya automa n. g. n. sp., infusoire parasite des Polymes. in: Bull. intern. Acad. Sc. Cracovie Jahrg. 1902.
- STEIN, F. (1854): Die Infusionstiere auf ihre Entwicklungsgeschichte untersucht. Leipzig 1854.
- (1860): Die Einteilung der holotrichen Infusionstiere. in: Sitz.-Ber. d. k. böhm. Ges. d. Wiss. Prag Jahrg. 1860.
- (1861a): Über ein neues parasitisches Infusionstier aus dem Darmkanal von Paludinen und über die mit demselben zunächst verwandten Infusorienformen. *ibid.* Jahrg. 1861.
- (1861b): Über ein von ihm im Darmkanal von Regewürmern aufgefundenenes neues Infusionstierchen. *ibid.* Jahrg. 1861.
- (1867): Der Organismus der Infusionstiere. Bd. II. Leipzig 1867.
- STENFELL, W. (1906): Vegetatives Leben und Geschlechtsakt. in: Mittell. d. naturw. Ver. f. Neuvorpommern u. Rügen V. 36.
- STOKES, A. C. (1884): Notices of some new parasitic Infusoria. in: Americ. Naturalist V. 18.
- TÖNNIES, C. (1898): Die feineren Bauverhältnisse von *Opalina ranarum*. in: Sitz.-Ber. d. Ges. z. Beförd. d. ges. Naturw. zu Marburg Jahrg. 1898.
- (1899): Nachtrag zu den Untersuchungen über die feineren Bauverhältnisse von *Opalina ranarum*. *ibid.* Jahrg. 1899.
- UNGER, F. (1843): Die Pflanze im Momente der Tierwerdung. Wien 1843.
- VEJDOWSKY, F. (1879): Monographie der Eucytraideu. Prag 1879.
- VENEZIANI, A. (1904): Über die physiologische Einwirkung des Radinms auf die *Opalina ranarum*. in: Centralbl. f. Physiol. V. 18.
- WARPASCHOWSKY, N. (1886): Eine neue Form von *Opalina* (*spiculata* n. sp.). in: Bull. Acad. impér. St. Pétersbourg V. 30.
- ZELLER, E. (1877): Untersuchungen über die Fortpflanzung und die Entwicklung der in unseren Batrachiern schmarotzenden Opalineu. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. V. 29.
- ZIEGLER, H. E. (1904): Das zoologische System im Unterricht. in: Verhandl. d. deutsch. zool. Ges. Tübingen 1904.
- ZUELZER, M. (1904): Beiträge zur Kenntnis von *Difflugia urceolata* CARTER. in: Arch. f. Protistenk. V. 4.

Tafelerklärung.

Tafel I.

Schema des Zengungskreises von *Opalina ranarum*.

Fig. A—D = Agamogene (multiplikative) Fortpflanzung im Sommer, Herbst und Winter.

Fig. 1—18 = Gamogene (propagatorische) Fortpflanzung im Frühjahr.

Fig. 1—8 im Frosch.

Fig. 9 im Wasser.

Fig. 10—18 in der Froschlarve.

- Fig. 1. Indifferentes Individuum als Ausgangspunkt für beide Kreise.
 Fig. 2—4. Zerfall in Gametocyten; Chromidien- und Sporetienbildung.
 Fig. 5—9. Bildung und Reifung der Geschlechtskerne.
 Fig. 10—13. Isogametenbildung.
 Fig. 14—16. Copulation und Bildung der Cystozygote.
 Fig. 17 u. 18. Agamonten der ersten metagametischen Generation.

Tafel II.

(Alle Figuren sind mit dem ABBE'schen Zeichenapparat in Objekthöhe entworfen.
 Alle Figuren dieser Tafel beziehen sich auf *O. ranarum*.)

Fig. 1. Teil eines indifferenten Individuums (Agamonten), entsprechend Taf. XVII Fig. A (1). ZEISS, Apochr. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 4.

Fig. 2. Ganzes Tier. Chromidienbildung, vom stumpfen Pol gegen den spitzen fortschreitend. LEITZ, Obj. 7, Oc. 0.

Fig. 3a—d. Phasen der Caryokinese der Agamontenkerne. ZEISS, Apochr. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 6.

Fig. 3e. Spirem derselben Kerne. ZEISS, Apochr. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 8.

Fig. 4a—l. Bildung und Ausstoßung der Chromidien. *m n n* Pigmentbildung in den Chromidien (im engeren Sinne). ZEISS, Apochr. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 6.

Fig. 5. Teil eines Individuums mit vergrößerten „scheibenförmigen Körperchen“. Dazwischen ein Kern in Chromidienbildung und ein Reservekern (Spirem). Dieselbe Vergrößerung.

Fig. 6. Teil eines Tieres mit fein verteilten Sporetien. Dieselbe Vergr.

Fig. 7. Teil eines Tieres mit in Alveolen („Plasmakugeln“) eingelagerten Sporetien. Dieselbe Vergr.

Fig. 8. „Plasmakugeln“ mit eingelagerten Sporetien. ZEISS, Apochr. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 8.

Fig. 9. Teil eines Individuums mit Agamonten-(Reserve-)Kernen und sich bildenden Geschlechtskernen. ZEISS, Apochr. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 6.

Fig. 10. Teil eines Tieres mit nengebildeten Geschlechtskernen und Reservekernen; dazwischen leer gebliebene Plasmakugeln. ZEISS, Apochr. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 4.

Fig. 11a—e. Unreife Geschlechtskerne mit Chromatinkappen. ZEISS, Apochr. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 6.

Fig. 12a—c. Teilung der unreifen Geschlechtskerne. Dieselbe Vergr.

Fig. 13. Gametocyt. Erste Reifeteilung der Geschlechtskerne. ZEISS, Apochr. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 4.

Fig. 14. Gametocyt nach der ersten Reifeteilung. Dieselbe Vergr.

Fig. 15a—c. Neugebildete Cysten aus dem Froschdarm mit noch unreifen Kernen. ZEISS, Apochr. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 6.

Fig. 16. Eben solche Cyste, nach dem Lehen. Dieselbe Vergr.

Fig. 17. Zwei Kerne aus einer bereits ins Wasser entleerten Cyste, Abstoßung des zweiten Reduktionskörpers. Dieselbe Vergr.

Fig. 18. Eben solche Cyste nach der Abstoßung des zweiten Reduktionskörpers. Dieselbe Vergr.

Fig. 19. Dasselbe Stadium bei einer ausnahmsweise einkernigen Infektionscyste. Dieselbe Vergr.

Fig. 20. Reife Infektionscyste. Dieselbe Vergr.

Tafel III.

(Die Figuren beziehen sich teils auf *O. ranarum*, teils auf *O. dimidiata*. Sie sind mit dem Anné'schen Zeichenapparat in Objekttischhöhe entworfen, mit Ausnahme der mit „Skizze nach dem Leben“ bezeichneten; diese sind ohne Zeichenapparat, schätzungsweise entsprechend der Vergrößerung von ZEISS, Apochr. Imm. 2 mm, Comp. Oc. 6 gezeichnet. Diese Vergrößerung ist auch für alle anderen Figuren gebraucht, nur bei Fig. 41 und 45 kam Comp. Oc. 8 zur Verwendung.)

Fig. 21. *Op. ran.* Reife Cyste aus dem Kaulknappendarm; die Kerne beginnen sich zu Befruchtungsspindeln umzuformen.

Fig. 22. *Op. ran.* Unreife Cyste im Begriff auszuschlüpfen.

Fig. 23a u. b. *Op. dim.* Zwei Stadien des Anschlüpfens einer Infektionscyste, b etwa 10 Minuten nach a. Skizze nach dem Leben.

Fig. 24. *Op. dim.* Frisch ausgeschlüpfter Gametocyt.

Fig. 25. *Op. ran.* Frisch ausgeschlüpfter Gametocyt.

Fig. 26. *Op. ran.* Unreif ausgeschlüpfter Gametocyt vor der Ausstoßung des zweiten Reduktionskörpers.

Fig. 27. *Op. ran.* Unreif ausgeschlüpfter Gametocyt nach der Ausstoßung des zweiten Reduktionskörpers.

Fig. 28. *Op. dim.* Gametocyt in Querteilung. Skizze nach dem Leben.

Fig. 29. *Op. ran.* Gametocyt in Querteilung.

Fig. 30. *Op. dim.* Gametocyt in Querteilung.

Fig. 31. *Op. ran.* Gametocyt vor der letzten Längsteilung.

Fig. 32a—d. *Op. dim.* Letzte Längsteilung eines Gametocyten zu Gameten. Skizzen nach dem Leben.

Fig. 33. *Op. dim.* Vermutlich dreikerniger Gametocyt in Längsteilung; das zweikernige Teilstück beginnt verfrüht schon seine nächste Längsteilung. Skizze nach dem Leben.

Fig. 34. *Op. dim.* Dreikerniger Gametocyt in Längsteilung.

Fig. 35. *Op. dim.* Zweikerniger Gametocyt in Längsteilung.

Fig. 36. *Op. dim.* Gamet. Essigsäurepräparat.

Fig. 37. *Op. dim.* Gamet.

Fig. 38. *Op. ran.* Gamet.

Fig. 39. *Op. dim.* Copulation der Gameten. a, b, d innerhalb $\frac{3}{4}$ Stunden nach demselben Exemplar gezeichnet, c nach einem anderen Exemplar. Skizzen nach dem Leben.

Fig. 40. *Op. dim.* Gametencopulation.

Fig. 41. *Op. dim.* Zygote; Kerne im Begriff zu verschmelzen.

Fig. 42. *Op. dim.* Birnförmige Zygote mit Befruchtungsspindeln. Nach dem Leben.

Fig. 43. *Op. dim.* Cystozygote mit Befruchtungsspindeln. Nach dem Leben. (Die äußere Cystenhülle erschien erst nach Essigsäurezusatz.)

Fig. 44. *Op. dim.* Cystozygote mit Syncaryon.

Fig. 45. *Op. dim.* Frisch ausgeschlüpfter, noch einkerniger Agamont der ersten metagametischen Generation. Essigsäurepräparat.

Fig. 46. *Op. dim.* Ebensolcher Agamont. Eisenalaun-Hämatoxylin.

Fig. 47. *Op. dim.* Ebensolcher Agamont.

Fig. 48. *Op. dim.* Ebensolcher Agamont; erste Teilspindel. Eisenalaun-Hämatoxylin.

Fig. 49. *Op. dim.* Ebensolcher Agamont; erste Teilspindel mit noch erkennbarem Material für die künftige Chromidienbildung. (?)

Fig. 50. *Op. dim.* Agamont, bereits zweikernig, gleichfalls mit noch erkennbarem Chromidienmaterial in den Kernen. (?)

Fig. 51. *Op. dim.* Agamont in lebhafter Kernvermehrung. Essigsäurepräparat.

Fig. 52. *Op. ran.* Junger Agamont. 48 Stunden nach der Infektion.

Nachdruck verboten.
Uebersetzungsrecht vorbehalten.

(Aus dem Zoologischen Institut in München.)

Depression der Protozoenzelle und der Geschlechtszellen der Metazoen.

Von
Methodi Popoff.

(Hierzu Tafel IV und 5 Textfiguren.)

Die ersten genauen Untersuchungen über den Lebenscyklus der einzelligen Organismen rühren von MAUPAS her. An sorgfältig geführten Ciliaten-Kulturen (darunter auch solche von *Stylonychia mytilus*) hat dieser ausgezeichnete Forscher den Beweis erbracht, daß der normale Abschluß einer Zucht von Infusorien die „dégénérescence sénile“ ist. Mit diesem Worte hat er jenen Zustand der Tiere bezeichnet, welcher nach einer, je nach den Arten verschiedenen großen Zahl von agamen Generationen eintritt und in der vollständigen Störung der Lebensfunktionen seinen Ausdruck findet. Als anatomische Konsequenz der „dégénérescence sénile“ hat MAUPAS eine Veränderung im Kernapparat beobachtet: der Macronucleus vergrößert sich, die Micronuclei vermehren sich über das Maß oder schwinden vollständig.

Die späteren Untersuchungen HERTWIG's, CALKINS, WOODRUFF's usw. haben gezeigt, daß der Verlauf einer Protozoenkultur nicht ganz so einfach ist, wie ihn der französische Forscher darstellte. Diese Untersuchungen haben ergeben, daß nach Perioden starker Vermehrung Zeiten eintreten, in welchen die Teilungsfähigkeit der Tiere herabgesetzt, ja sogar vollkommen unterdrückt wird. In diesem Zustand, den CALKINS mit dem passenden Worte „Depressionszustand“

bezeichnete, nehmen die Tiere keine Nahrung in sich auf, bleiben unbeweglich am Boden des Kulturgefäßes sitzen, um nach einem oder mehreren Tagen wieder in die lebhafteste Teilnng einzutreten. Diese immer häufiger eintretenden und tiefer werdenden Depressionen führen schließlich zur vollständigen Erschöpfung der Kultur, — zu der „dégénérescence sénile“ (MAUPAS), oder, wenn wir den Ausdruck HERTWIG's anwenden wollen, zu der „physiologischen Degeneration“ der Tiere.

Dnrch Beobachtungen an ausgedehnten Actinosphaerienkulturen und an vielen Infusorienkulturen (*Dileptus*, *Didinium*, *Paramaecium*) gestützt, sieht HERTWIG die Ursache der Depressionen in der von Zeit zu Zeit erfolgenden übermäßigen Vergrößerung des Kernes. CALKINS dagegen, dem wir Angaben über eine 23 Monate lang geführte Paramaecienkultur verdanken, bestritt zuerst die Beobachtungen HERTWIG's an Depressionstieren und behauptete, daß die Ursache der Depression nicht anatomischer Natur, sondern rein physiologisch ist. In seiner letzten Arbeit über denselben Gegenstand gibt aber CALKINS diese seine Behauptung zugunsten der HERTWIG'schen Auffassung auf.

Um erstens für die theoretisch wichtige Frage nach den Ursachen der Depression neue Beobachtungen zu bringen, und zweitens die Resultate MAUPAS' über den Lebenscyklus von *Stylonychia mytilus* nachzuprüfen, wurde auf Veranlassung meines hochverehrten Lehrers Herrn Professor Dr. RICHARD HERTWIG diese Untersuchung von mir vorgenommen.¹⁾ Ich erachte es daher als eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. R. HERTWIG auch an dieser Stelle meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Am 1. April 1906 habe ich ein Exemplar (nicht exconjugiertes Tier) von *Stylonychia mytilus* aus den Kulturgläsern des zoologischen Instituts herausgenommen und in dicht schließenden Uhrschildchen weiter kultiviert. Als Nahrung wurde *Colpidium* benutzt.²⁾ Die

¹⁾ Diese Beobachtungen machte ich gelegentlich meiner experimentellen Untersuchungen über das Verhältnis zwischen Kern- und Plasmagröße bei der Teilung von *Stylonychia mytilus* bei verschiedenen Temperaturen. Genaueres über die in dieser Richtung gewonnenen Resultate werde ich demnächst mitteilen.

²⁾ Dieses holotriche Infusor ist leicht immer in großen Mengen zu haben, indem man Blätter von Kopfsalat in ein größeres Glas mit Wasser bringt. Dieselben müssen gut gewaschen sein, um die anhaftenden Cysten möglichst zu entfernen. 2 oder 3 Tage später, nachdem eine schwache Fäulnis in dem Glase sich entwickelt hat, bringt man einige Colpidien in die Kultur hinein. Dies genügt,

Kultur habe ich bei Zimmertemperatur, welche während der ganzen Zeit (1. April bis 16. Juli 1906) zwischen ca. 17°—19° C schwankte, fortgeführt. Unter diesen Temperatur- und Nahrungsverhältnissen vermehrte sich die Kultur sehr stark. Da meine Zeit bis zum 12. April nicht ansreichte, um ganz exakte Zählkulturen zu führen, habe ich mich in diesen ersten 12 Tagen damit begnügt, die Kultur bloß von Zeit zu Zeit zu reduzieren. Um dabei die Teilungsrate bestimmen zu können, habe ich jede 5 Tage einzelne Tiere aus der Kultur herausgenommen und weiter isoliert kultiviert. Es ergaben sich $1\frac{1}{2}$ Teilungen in 24 Stunden. Bis zum 12. April teilte sich die Kultur ganz regelmäßig, ohne irgend welche Besonderheiten zu zeigen, an welchem Tage ein Tier von der Kultur isoliert und weiter kultiviert wurde. Diese neue Kultur bezeichne ich als „Zählkultur A“. Außerdem habe ich noch zwei Zählkulturen: „Zählkultur B“ und „Zählkultur C“ und die Anfangskultur (1. April) als „Hauptzimmerkultur“ weiter fortgeführt. In der nun folgenden Beschreibung werde ich ausführlicher über die Zählkultur A berichten. Am Schluß dieses Berichts werden einige Bemerkungen über den Verlauf der anderen Kulturen Platz finden.

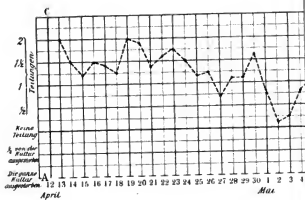
Zählkultur A.

Nachdem die Zahl der Tiere auf 10 gestiegen ist, habe ich jeden weiteren Tag die Kultur immer auf 10 Tiere reduziert. Auf diese Weise konnten mir keine eingetretenen Veränderungen in dem Zustand der Tiere entgehen. Nach dem genau für jeden Tag geführten Protokoll, das ich hier im knappen Auszug wiedergebe, habe ich die Lebenskurve (Textfig. 1) von *Stylonychia mytilus* hergestellt.

daß nach weiteren 3—4 Tagen die Kultur von Colpidien wimmelt. Man muß immer darauf achten, daß die Fäulnis in der Kultur sich nicht zu sehr entwickelt, da die Stylonychien eine solche Nahrung nicht vertragen. Man gießt am besten jede 2 Tage die Hälfte von dem Wasser der Futterkultur ab, füllt frisches Brunnenwasser nach und bringt wieder dazu einige frische Salatblätter. Die den Stylonychien zugeführte Nahrung muß in kleinen Portionen sorgfältig mit einer starken Lupe durchmustert werden, damit man versichert ist, daß keine anderen Infusorien sich darin befinden. Wird zufällig die Futterkultur durch Oxytrichen oder andere Raubinfusorien verunreinigt, so ist sie nicht mehr brauchbar. Das Wasser und die Nahrung der Stylonychienkultur muß unbedingst jeden Tag gründlich gewechselt werden.

Tag	Zahl der Tiere	Beobachtet auf	Zahl der Teilungen	Bemerkungen
April 1.	Wie am 1. April 1906 mit einem Tier angelegte Kultur „Hauptstammkultur“ teilte sich bei starker Ernährung und bei einer Temperatur von 17° C. bis zum 12. April 1906, ohne irgend welche Besonderheiten zu zeigen, ca. 1,5-mal in 24 Stunden.			An diesem Tage wurde ein Tier von dieser Kultur herausgenommen und weiter kultiviert.
	12	1		
	13.	44	2	
	14.	1210	15	
	15.	2410	12	
	16.	3010	15	
	17.	2810	14	
	18.	351	125	
	19.	44	2	
	20.	1410	18	
	21.	2710	135	
	22.	3210	16	
	23.	351	175	
	24.	33	15	
	25.	77	117	
	26.	1710	12	
	27.	1710	07	
	28.	2110	106	
	29.	2110	106	
	30.	3210	16	
Mai 1.	1810	08		Depression. — Alle Tiere haben sich wieder erholt.
	2.	1110	01	
	3.	1510	05	
	4.	1810	08	
	5.	2110	106	
	6.	2710	135	
	7.	2210	11	
	8.	1910	09	
	9.	2110	106	
	10.	2010	1	
	11.	2510	125	
	12.	1910	09	
	13.	3410	17	
	14.	3410	17	
	15.	3610	18	
	16.	3310	165	
	17.	2210	11	
	18.	2010	1	
	19.	1910	09	
	20.	2210	11	
	21.	3210	16	
	22.	2910	145	
	23.	1610	06	
	24.	1810	08	
	25.	1910	09	
	26.	2210	11	
	27.	2810	14	
	28.	2110	106	
	29.	1310	03	Depression mit Neigung zur Conjugation.
	30.	1210	02	
	31.	136	03	

Datum	Zahl der Tiere	Reduziert auf	Zahl der Teilungen	Bemerkungen
April 1.	Die am 1. April 1906 mit einem Tier angelegte Kultur („Hauptzimmerkultur“) teilte sich bei starker Ernährung und bei einer Temperatur von 17° C bis zum 12. April 1906, ohne irgend welche Besonderheiten zu zeigen, ca. 1 1/2 mal in 24 Stunden.			An diesem Tage wurde ein Tier von dieser Kultur herausgenommen und weiter kultiviert.
12.	1			
13.	4/4		2	
14.	12/10		1·5	
15.	24/10		1·2	
16.	30/10		1·5	
17.	28/10		1·4	
18.	35/1		1·25	
19.	4/4		2	
20.	14/10		1·8	
21.	27/10		1·35	
22.	32/10		1·6	
23.	35/1		1·75	
24.	3/3		1·5	
25.	7/7		1·17	
26.	17/10		1·2	
27.	17/10		0·7	
28.	21/10		1·05	
29.	21/10		1·05	
30.	32/10		1·6	
Mai 1.	18/10		0·8	Depression. — Alle Tiere haben sich wieder erholt.
2.	11/10		0·1	
3.	15/10		0·5	
4.	18/10		0·8	
5.	21/10		1·05	
6.	27/10		1·35	
7.	22/10		1·1	
8.	19/10		0·9	
9.	21/10		1·05	
10.	20/10		1	
11.	25/10		1·25	
12.	19/10		0·9	
13.	34/10		1·7	
14.	34/10		1·7	
15.	36/10		1·8	
16.	33/10		1·65	
17.	22/10		1·1	
18.	20/10		1	
19.	19/10		0·9	
20.	22/10		1·1	
21.	32/10		1·6	
22.	29/10		1·45	
23.	16/10		0·6	
24.	18/10		0·8	
25.	19/10		0·9	
26.	22/10		1·1	
27.	28/10		1·4	
28.	21/10		1·05	
29.	13/10		0·3	Depression mit Neigung zur Conjugation.
30.	12/10		0·2	
31.	13/6		0·3	



Datum	Zahl der Tiere	Reduziert auf	Zahl der Teilungen	Bemerkungen
Juni 1.	6/4		0	
2.	7/7		0.7	
3.	17/10		1.2	
4.	26/10		1.3	
5.	27/10		1.35	
6.	30/10		1.5	
7.	31/10		1.55	
8.	34/10		1.7	
9.	23/10		1.15	
10.	23/10		1.15	
11.	13.8		0.3	
12.	8/4		0	
13.	12/10		1.5	} Depression mit starker Neigung zur Encystierung. 6 Tiere haben sich en- cystiert.
14.	11/11		0.1	
15.	6/5		0.1	
16.	8/7		0.6	
17.	18/10		1.2	
18.	21/10		1.05	
19.	38/10		1.9	
20.	33/10		1.65	
21.	26/10		1.3	
22.	33/10		1.65	
23.	31/10		1.55	
24.	38/10		1.9	
25.	45/10		2.12	
26.	51/10		2.3	
27.	33/10		1.65	
28.	32/10		1.6	
29.	35/10		1.75	
30.	10/7		0	
Juli 1.	1/1		0	} Sehr tiefe Depression. Alle Tiere bis auf eins gestorben.
2.	1/1		0	
3.	1/1		0	
4.	5/4		2.25	
5.	16/5		2	
6.	25/10		2.25	
7.	21/10		1.05	
8.	35/10		1.75	
9.	36/10		1.8	
10.	9/9		0	} Sehr tiefe Depression. Kein Tier konnte sich erholen. Dieser Teil des Protokolls ist aus Angaben der Hilfs- kulturen σ und ρ , welche ich am 9. Juli von der Zähl- kultur A abgezweigt habe, kombiniert. Näheres siehe im Text.
11.	9/9		0	
12.	10/5		0.1	
13.	10/10		1	
14.	5/5		0	
15.	5/5		0	
16.	Die Kultur ausgestorben.			

Auf der Abscisse *AB* (Textfig. 1) ist die Zeit in Abständen von je einem Tage vermerkt, auf der Ordinate *AC* ist die Teilungsintensität dargestellt. Bei genauer Durchsicht dieser Kurve ist zu bemerken, daß bis zum 2. Mai die Kultur nur kleine Schwankungen¹⁾ in der Teilung

¹⁾ Auf diesen eigenartigen rhythmischen Verlauf der Teilungen, welcher sich in jeder Infusorienkultur bemerkbar macht, will ich gleich von Anfang an hier kurz eingehen. Diese Schwankungen rühren davon her, daß nicht alle Tiere unter

gezeigt hat, die Teilungsrate ist aber durchschnittlich genommen ca. $1\frac{1}{2}$ mal in 24 Stunden geblieben. Am 1. Mai hat sich die Kultur nur 1 mal geteilt. Dies wäre an sich nichts Außergewöhnliches gewesen, wenn mir nicht aufgefallen wäre, daß die Tiere nicht besonders stark ausgewachsen waren. Unter dem Mikroskop zeigte sich, daß dieselben nur spärliche Nahrung in sich aufgenommen haben. Bei manchen Tieren konnte ich kleine Unregelmäßigkeiten am hinteren Ende des Körpers beobachten. In den Lebensbedingungen der Kultur waren gar keine Veränderungen eingetreten. In der Hilfskultur¹⁾ waren genau dieselben Erscheinungen zu beobachten. Am 2. Mai hatte sich in der Zählkultur bloß ein Tier geteilt. Vier Tiere von der Kultur waren von unregelmäßiger Körpergestalt. Bei denselben beobachtete ich eine Reduktion der Schwanzborsten. Die Tiere nahmen noch keine Nahrung in sich auf und führten träge Bewegungen am Boden des Gefäßes aus. Am 3. Mai fingen die Tiere von neuem zu fressen an und gewannen ihr normales Aussehen. Fünf von denselben haben sich geteilt; am 4. Mai nahm die Kultur ihren normalen Verlauf. Es ist klar, daß die Tiere eine schwache Depression durchgemacht haben, von welcher sich alle Tiere wieder erholen konnten.

In den darauf folgenden Tagen vermehrte sich die Kultur mit ihrer gewöhnlichen Teilungsgeschwindigkeit ganz normal weiter. Nur in der Zeit zwischen 13. und 16. Mai ist eine beträchtliche Erhöhung der Teilungsrate bemerkbar. Die Ursache dazu ist in der bis zu 22° C. gesteigerten Zimmertemperatur zu suchen. Diesem Teilungsaufschwung ist daher im gegebenen Falle keine besondere Bedeutung beizumessen. Am 23. Mai hat sich eine kleine Abweichung in dem Gang der Kultur bemerkbar gemacht. Es haben sich bloß 6 Tiere geteilt. Auffallend war dabei, daß alle Tiere in der Kultur noch sehr klein waren. Die normale Körpergestalt war, mit einer

den gleichen Lebensbedingungen bezüglich der Nahrung stehen können und darum Verschiebungen in der Teilungszeit der Tiere eintreten. Beim Zählen der Kultur, was gewöhnlich zwischen 8—9^h morgens geschah, sind daher nebeneinander Tiere zu beobachten, welche kurz vor der Teilung stehen, und solche, welche sich eben geteilt haben. Es ist leicht einzusehen, daß unter solchen Umständen in der kurzen Zeit von 24 Stunden die Zahl der Tiere kleine Schwankungen zeigen wird. Einen Einfluß auf die Teilungsrate hatte auch die schwankende Zimmertemperatur. Die prägnanten Abweichungen in dieser Beziehung werde ich an der betreffenden Stelle erwähnen.

¹⁾ Von der reduzierenden Kultur wurden jeden Tag, je nachdem 5—10 Tiere gesondert und bis zum folgenden Tag für sich kultiviert. Dies geschah, um irgend welchen eintretenden Eventualitäten mit der Zählkultur vorbeugen zu können. Diese Kulturen nenne ich „Hilfskulturen“.

Ausnahme, beibehalten. Das betreffende Tier war von unregelmäßiger Körperform und war undurchsichtig geworden. Am anderen Tag nahm die Kultur ihr normales Aussehen an; alle Tiere waren ausgewachsen.

Nach dieser sehr schwachen Depression steigt die Teilungskurve bis zum 27. Mai allmählich mehr und mehr, um am 28. und 29. Mai sehr tief herabzusinken. An diesem letzten Tag haben sich bloß 3 Tiere von der ganzen Kultur geteilt. Alle Tiere in der Kultur bewahrten aber noch ihr ganz normales Aussehen. Auffällig war es, daß manche Tiere einige Zeit nebeneinander schwammen, ohne daß dieser Vorgang zur Conjugation führte. Am 30. Mai zeigte die Kultur ein ganz anderes Bild. Von den 10 Tieren, mit welchen die Kultur weiter geführt wurde, haben sich bloß 2 Tiere geteilt. Es wurden also im ganzen 12 Tiere. Zwei von diesen waren stark deformiert, die anderen 10 waren undurchsichtig und mit kleinen Unregelmäßigkeiten in der Konturierung des hinteren Körperendes. Die Schwanzborsten waren noch vorhanden. Am 31. Mai haben sich nur 3 Tiere geteilt. Von den 13 Tieren, welche sich jetzt in der Kultur befanden, waren 2 stark deformiert, 4 sehr klein und fast rund, die anderen trüb im Aussehen und sehr schwach beweglich. Von den 6 Tieren, mit welchen die Kultur weiter geführt wurde, waren am 1. Juni 2 ausgewachsen, 2 noch klein und 2 abgerundet. — es war keine Teilung eingetreten. Erst am 2. Juni hat sich die Kultur wieder einmal geteilt. Alle Tiere wurden wieder ganz normal und stark ausgewachsen. Von dieser länger als am 2. Mai dauernden Depression haben sich alle Tiere wieder erholen können. Die Kultur nahm in den folgenden Tagen bis zum 10. Juni ihren normalen Verlauf und zeigte eine rasch ansteigende Teilungsintensität. Nach einer so starken Depression ist dieser Teilungsaufschwung und das starke Auswachsen der Tiere besonders auffallend. Am 9. Juni trat in der Kultur eine Neigung zur Encystierung ein. An diesem Tag haben sich 3 Tiere abgekugelt und encystiert, die übrigen waren sehr stark herangewachsen und von ganz normalem Aussehen. In genau solchem Zustand war auch die Hilfskultur; dort auch wurden neben den normalen, encystierte Tiere vorgefunden. Trotzdem ich für die weitere Führung der Kultur immer nur ganz normal aussehende Tiere nahm, traten bis zum 15. Juni immer einige neu encystierte und abgekugelte Tiere auf. Gleichzeitig damit trat auch ein starkes Herabsinken der Teilungsrate der Kultur ein. So z. B. haben sich am 11. Juni nur 3 Tiere geteilt. In der Kultur waren also 13 Tiere, 8 davon normal ausgewachsen und 5 encystiert. Am

12. Juni haben sich diese 8 Tiere nicht geteilt, vielmehr wurden 2 weitere encystiert gefunden. Von den 6 normal gebliebenen, nicht encystierten Tieren habe ich 4 getrennt und weiter kultiviert. Diese haben sich am 13. Juni 1½ mal geteilt. Am 14. und 15. Juni trat zum letzten Male Encystierung in der Kultur ein.

Unter dem Mikroskop zeigten nicht alle abgerundeten Tiere eine ausgebildete Cystenmembran. In sehr vielen Fällen fehlte dieselbe gänzlich; diese Tiere starben nach ein paar Tagen ab. Über das Schicksal der Cysten mit normal ausgebildeter Cystenmembran kann ich nur sagen, daß die Zahl der Cysten von 14. bis zum 17. Juni die gleiche blieb. Das Auskriechen der Tiere aus den Cysten konnte ich direkt nicht beobachten, da dieselben nicht isoliert, sondern in dem Uhrschälchen mit der Zählkultur belassen wurden. Am 18. Juni waren von den 5 Cysten nur noch 2 übrig geblieben. Es ist anzunehmen, daß 3 von den Cysten ausgekrochen waren. Die anderen 2 Cysten habe ich abgetötet. Nach dieser mit sehr starker Neigung zur Encystierung begleiteten Depression nahm die Kultur am 16. Juni unter sehr lebhafter Vermehrung und starker Größenzunahme der Tiere ihren normalen Verlauf, mit den gewöhnlichen Schwankungen in der Teilungsrate. Diese lebhafte Vermehrung dauerte bis zum 29. Juni. Erwähnenswert ist, daß während dieser Zeit hier und da in der Kultur Tiere auftraten, welche nicht ganz normale Gestalt aufwiesen. Die hintere Körperhälfte war schmaler als gewöhnlich und das betreffende Körperende von nicht ganz regelmäßiger Kontur. Solche Tiere sahen durchsichtiger als die übrigen aus. Außer diesen Abweichungen war der Verlauf der Kultur ganz normal. Am 29. Juni zählte die Kultur 35 Tiere. Wie gewöhnlich wurden an diesem Tag 10 Tiere gesondert und weiter kultiviert. Am 30. Juni fand ich die Tiere ungeteilt und klein. Das Plasma derselben war undurchsichtiger geworden. Die Form des Körpers zeigte Unregelmäßigkeiten. Die Tiere lagen am Boden und führten nur noch träge Bewegungen aus. Nur ein Tier war noch ganz munter und von normalem Aussehen. Am 1. Juli war in der Zählkultur A nur noch ein stark deformiertes und kaum bewegliches Tier lebend. Alle übrigen Tiere sind ausgestorben. Am 2. Juni hat das einzig übrig gebliebene Tier von neuem Nahrung aufzunehmen angefangen. Das Tier sah normal aus, war aber noch sehr klein. Am 3. Juni fand ich das Tier stark herangewachsen, normal und in lebhafter Bewegung. Am 4. Juli zählte die Kultur 5 herangewachsene Tiere.¹⁾

¹⁾ Leider unterließ ich, genaue Messungen über die Größe der Tiere im Laufe der Kultur zu machen.

Hier möchte ich die Schilderung des weiteren Verlaufes der Kultur etwas unterbrechen und über das Schicksal der am 29. Juni von der Zählkultur A abgezweigten Hilfskultur berichten. Am 30. Juni war in der Hilfskultur keine Teilnng eingetreten. Die Tiere befanden sich in genau demselben Zustand wie diejenigen von der Mutterkultur nm dieselbe Zeit (siehe oben). Am 1. Juli zählte die Hilfskultur 8 deformierte und kleine Tiere. In allen war eine starke Reduktion der Schwanzborsten bemerkbar. Diese 8 Tiere sind am 2. Juli bis auf 1 ausgestorben. Dieses übrig gebliebene Tier nahm keine Nahrung auf und führte nur noch kaum merkliche Bewegungen aus. Am 3. Juli starb auch dieses Tier ab. Von den 35 Tieren, welche die Kultur A vor der Depression zählte, konnte sich also nur 1 Tier erholen. Die Kultur war gerettet und wurde weiter fortgeführt.

Nach dem 3. Juli trat eine Zeit sehr lebhafter Vermehrung ein (siehe die Lebenskurve, Textfig. 1). Die Tiere waren auffallend groß und das Plasma derselben war sehr vacuolenreich geworden. Besonders auffallend war eine große Vacuole in der Mitte des Körpers, welcher infolgedessen an dieser Stelle breiter als bei ganz normalen Tieren geworden war. Beim durchfallenden Lichte sah diese Vacuole grünlich aus. Die lebhafte Vermehrung der Kultur dauerte einschließlich bis zum 9. Juli. Die an diesem Tag getrennten 10 Tiere fand ich am 10. Juli nicht geteilt, gar nicht herangewachsen und von anormaler Körpergestalt. Die Tiere bewegten sich sehr träge und nahmen keine Nahrung auf. Am 11. Juli waren diese 10 Tiere infolge der tiefen Depression ausgestorben. Es blieben mir nur die Tiere der am 9. Juli von der Zählkultur abgezweigten Hilfskultur. Dieselbe zählte am 9. Juli 26 Tiere, welche am 10. Juli munterer und lebhafter als die Tiere der Zählkultur A geblieben waren. Die Tiere haben noch ihre normale Größe beibehalten, im Körper war aber nur spärliche Nahrung vorhanden. Das stark vacuolisierte Protoplasma mit der großen Vacuole in der Mitte des Körpers war besonders auffallend. Die Kultur hatte sich trotzdem schwach vermehrt. An demselben Tage (10. Juli) teilte ich diese Kultur in zwei weitere Kulturen: Kultur α und Kultur β , jede mit 10 Tieren. Am 11. Juli fand ich die Tiere der Kultur α nicht vermehrt. Alle waren in starker Depression und sehr schwach beweglich. Die Kultur β machte einen etwas besseren Eindruck: Die Tiere, wenn auch sehr träge, bewegten sich noch. Am 12. Juli war von der Kultur α kein einziges Tier am Leben geblieben. In der Kultur β dagegen war eine Vermehrung der Tiere zu bemerken. Es

waren 23 kleine Tiere vorhanden. Ich teilte diese Kultur abermals in zwei Kulturen β^1 mit 5 Tieren und Kultur β^2 mit 18 Tieren. Am 13. Jnli waren in der Kultur β^1 10 sehr kleine und träge bewegliche Tiere vorhanden. Die große bräunliche Vacuole in der Mitte des Körpers war bei allen Tieren vorhanden, was den sonst klein gebliebenen Tieren ein anormales Aussehen gab. Die Kultur β^2 enthielt 27 kleine Tiere; es war also eine schwache Vermehrung zu beobachten. Ich führte diese Kultur mit 15 Tieren weiter. Am 14. Juli war in den beiden Kulturen gar keine Vermehrung zu beobachten. Die Tiere führten nur noch sehr schwache Bewegungen am Boden des Gefäßes aus, nahmen gar keine Nahrung in sich auf und waren noch kleiner geworden. Der Körper war unregelmäßig konturiert. Am 15. Jnli zeigten die Tiere nur noch sehr schwache Bewegungen und am 16. Juli sind die beiden Kulturen ansgestorben. Von dieser tiefen Depression konnte sich kein einziges Tier erholen.

Ähnliche Lebenskurven zeigten alle anderen Kulturen. Dort wechselten auch Perioden starker Vermehrung mit Depressionsperioden. Je nachdem die Kulturen von der vorher besprochenen Zählkultur A abgezweigt, oder mit ganz anderen Tieren angelegt wurden, wechselte die Zeit, in welcher die Depression bei denselben eintrat. Selbst in dem ersten Fall, d. i. wenn die Kultur von der Zählkultur A stammte, stellte sich eine ziemlich große Differenz in den Zeiten des Eintritts der Depression ein. So z. B. in einer Kultur (Zählkultur B), welche am 21. April von der Zählkultur A abgezweigt wurde, trat die Depression nicht am 2. Mai (vgl. die Lebenskurve, Textfig. 1), sondern erst am 5. dieses Monats, d. h. in einer Zeit, in welcher die Zählkultur A sich schon wieder in lebhafter Vermehrung befand. Ähnliche Abweichungen waren auch bei allen anderen Kulturen zu bemerken. Alles das spricht dafür, daß die Ursache der Depression nicht in dem zufälligen Wechsel der äußeren Existenzbedingungen, wie Qualität der Nahrung, des Wassers u. dgl. zu suchen ist, sondern daß diese Ursache in dem Organismus selbst liegt. Denn, würde ersteres der Fall sein, dann sollte die Depression, wenn man berücksichtigt, daß alle Tiere mit derselben Nahrung versehen wurden und unter denselben äußeren Bedingungen gestanden, in allen Kulturen immer gleichzeitig eintreten; dies war jedoch nicht der Fall.

Auf eine tiefer eingehende Beschreibung des Lebenslaufes aller dieser verschiedenen Kulturen werde ich mich hier nicht einlassen, da Wiederholungen dabei nicht zu vermeiden sein würden. Bemerken

möchte ich nur, daß in einer Kultur, welche von der Zählkultur A am 20. April abgezweigt wurde und immer mit ein paar hundert Tieren weiter geführt wurde, in der Zeit zwischen 28. und 30. Mai eine starke Neigung zur Conjugation eintrat, welche dadurch zum Ausdruck kam, daß die Tiere paarweise nebeneinander schwammen, um sich nachher wieder zu trennen. Ich konnte während dieser Zeit keine einzige richtige Copula beobachten. Auch in dieser Kultur, welche ganz genau parallelen Verlauf mit der Zählkultur A zeigte, trat die Neigung zur Conjugation in der Zeit auf, wo die Kultur einen Depressionszustand durchmachte. Wie dort, so auch hier haben sich die Tiere erholen können und die Kultur wurde weiter geführt. Dieselbe befand sich am 15. Juni in der lebhaftesten Vermehrung, in welcher Zeit die Zählkultur A dagegen sich in einen tiefen Depressionszustand, begleitet mit Neigung zur Encystierung befand. Erst zwischen 16. und 18. Juni trat in dieser Kultur Neigung zur Encystierung, welche bis zum 20. Juni dauerte. Von diesem Tag an nahm die Kultur von neuem ihren normalen Verlauf. Am 8. Juli, bis zu welcher Zeit die Tiere sich in sehr gutem Zustand befanden, wurde die Kultur eingestellt. Über den Verlauf der anderen Kulturen habe ich nichts Besonderes zu verzeichnen.

Anatomisches Bild.

Das ist der normale Verlauf einer Stylonychienkultur. Betrachten wir nun den Zustand der Zelle in den verschiedenen Momenten dieses Verlaufes. Für den letzteren Zweck habe ich immer sowohl in Zeiten der lebhaften Vermehrung, wie auch vor, während und nach jeder Depressionsperiode Tiere in Pikrinessigsäure abgetötet, mit Borax-Karmin gefärbt und in Nelkenöl aufbewahrt und untersucht. In den Perioden der normalen-lebhaften Vermehrung sind die Tiere von regelmäßiger Körpergestalt, messen ca. 320—360 μ und besitzen zwei ovale, verhältnismäßig kleine Kerne, von welchen jedem zwei Micronuclei anliegen. Es kommt manchmal vor, wie das der Fall bei dem in Fig. 1 dargestellten Tier ist, daß an dem einen Kern drei Micronuclei anliegen und eins an den anderen. Das sind Abweichungen, denen keine Bedeutung zukommt. Das Plasma ist gewöhnlich mit Nahrungsvacuolen überfüllt, in welchen Nahrung (Colpidien) in verschiedenem Grade des Zerfalls sich befindet, was für eine lebhafte Assimilationstätigkeit zengt.

Ganz anders gestaltet sich das Bild bei Tieren, welche in Depressionsperioden abgetötet worden sind. Wenn wir die Fig. 2—11, welche alle nach solchen Tieren entworfen sind, flüchtig durchsehen, fällt gleich ins Auge, daß die Körpergröße der Tiere beträchtlich abgenommen hat. Niemals findet man Depressionstiere, welche die normale Größe aufweisen. Gewöhnlich schwankt dieselbe in beträchtlichem Maße (von 200—90 μ), wie das auch leicht aus den Abbildungen zu ersehen ist, welche alle bei derselben Vergrößerung gezeichnet sind. Das Plasma der Depressionstiere ist gewöhnlich ganz frei von Nahrungsvacuolen, oder dieselben finden sich sehr spärlich. Das auffälligste bei solchen Präparaten ist aber die starke Vergrößerung der Macronuclei. Dieselben verlieren ihre regelmäßige ovale Form, werden gelappt, d. h. sie zeigen Ausbuchtungen und tiefe Einschnürungen. Das Maß der Kernvergrößerung steht in direktem Zusammenhang mit der Stärke der Depression. Am Anfang der Depression ist zu bemerken, daß die Kerne noch nicht so stark vergrößert sind und, daß sie noch ihr kompaktes Aussehen erhalten haben. Hier und da merkt man nur, daß im Innern derselben kleine Vacuolen vorhanden sind (Fig. 2). Die Zahl der Micronuclei bleibt noch normal. Je tiefer die Depression wird, desto mehr vergrößern sich die Kerne, und durch die Mittelphasen Fig. 3—6 kommen wir schließlich zu Formen, bei welchen die Macronuclei geradezu riesenhafte Dimensionen annehmen (Fig. 7—8). In solchen Fällen wird der Kern bandförmig, zeigt unregelmäßige Verdickungen und schlängelt sich nach verschiedenen Richtungen. Mit der allmählichen Zunahme des Kernes ist eine Vermehrung der Vacuolen in demselben zu bemerken, welche manchmal, wie das z. B. in der Fig. 7 abgebildet ist, den ganzen Kern durchsetzen. Diese Vacuolen sind klein, ihre Zahl, wenn man von den extremen Fällen der Fig. 7 absieht, gewöhnlich im Verhältnis zu der Kerngröße nicht bedeutend, so daß die Kernvergrößerung nicht allein eine Folge der Vacuolisierung des Kernes ist, sondern vielmehr auf einer übermäßigen Anhäufung von Chromatinsubstanz beruht. Für den letzteren Fall spricht auch der Umstand, daß der Kern jetzt genau so tief färbbar ist wie zuvor.

Nachdem die Kerne eine beträchtliche Größe erreicht haben, beginnt die Zerstückelung derselben in kleinere Partien. Das geschieht, indem der Kern sich an manchen Stellen mehr und mehr verdünnt und schließlich abschnürt (Fig. 3. 4. 5. 8, 10). Dieser Prozeß ist in allen seinen Mittelstadien ganz genau zu verfolgen. Das enorme Wachstum der Kerne und ihre Zerstückelung findet man mitten in den tiefsten Depressionen. Am Ende der Depressions-

periode werden die Kerne wieder kleiner und bis zu der vollständigen Wiederherstellung der normalen Verhältnisse zwischen Kern- und Körpergröße wiederholen sich in umgekehrter Reihe die Prozesse, welche anfänglich zu der Vergrößerung der Kerne geführt haben. Es ist in der Tat gar kein Unterschied in bezug auf die Kernverhältnisse zwischen einem Tier, welches sich am Anfang der Depression befindet und einem solchen, welches am Ende derselben steht. Es muß also notwendigerweise eine Resorption der Kernsubstanz stattgefunden haben. Die Zerstückelung der Kerne kann man als einen Vorgang, welcher in manchen Fällen zu dem leichteren Zustandekommen dieses Resorptionsprozesses beiträgt, auffassen. Zu dieser Annahme zwingen mich insbesondere Beobachtungen, die ich an Paramaecien gemacht und welche ich später besprechen werde.

Hand in Hand mit der abnormen Vergrößerung der Macronuclei geht die Vermehrung der Micronuclei vor sich. Die letzteren behalten trotz des anormalen Zustandes der Zelle ihre Teilungsfähigkeit, ja es scheint sogar, daß dieser abnorme Zustand unbedingt notwendig ist, damit die Micronuclei in Funktion treten können. Es ist gar nicht selten, daß man sehr kleine Tiere mit enorm großen Kernen findet, in welchen die Micronuclei in Teilung begriffen sind (Fig. 9). Auf diese Weise erklärt sich der Umstand, daß in Tieren mit sehr vergrößerten Macronuclei immer auch eine vermehrte Zahl von Micronuclei zu finden ist. Depressionstiere mit 5 (Fig. 10), 6 (Fig. 6), 7 (Fig. 7, 8) und 8 Micronuclei sind gewöhnliche Erscheinungen. Eine höhere Zahl Micronuclei als 8 habe ich in meinen Präparaten nicht beobachten können.

Die hier erwähnte Abhängigkeit zwischen Teilung der Micronuclei und Kernvergrößerung ist besonders prägnant bei der Conjugation der Infusorien zu beobachten. Das veranlaßte mich nachzusehen, ob nicht in der Tat ein tiefer Parallelismus zwischen den Prozessen, welche zur Depression und denen, welche zur Conjugation führen, existiert. Das wollte ich deswegen schon prüfen, da ich Gelegenheit hatte zu beobachten, daß während einer tiefen Depression der Zählkultur A und der Hauptzimmernkultur eine Neigung zur Conjugation eintrat. Die auf die Kernverhältnisse untersuchten Tiere dieser zwei Kulturen zeigten die typische Vergrößerung der Kerne der Depressionstiere. Da bei meinen Kulturen keine Conjugation eintrat, konnte ich am eigenen Material den Zustand der Kerne von conjugierenden Stylonychien nicht untersuchen. Es wurde mir in dieser Beziehung in liebenswürdigster Weise von Fräulein K. MAYER, stud. zool., geholfen. Eine ihrer Stylonychienkulturen,

welche mit mehreren Ausgangstieren angefangen wurde, schloß mit Conjugation ab. Das mir zur Verfügung gestellte Material zeigte: 1. eine Abnahme der Körpergröße, wie das bei allen in Depression sich befindenden Tiere der Fall ist; 2. die Kerne aller Tiere, sowohl der noch nicht conjugierten (Fig. 11), wie auch deren, welche am Anfang der Conjugation sich befinden (Fig. 12, 13), waren typische Depressionskerne; diese sind alle abnorm vergrößert und gelappt. Sehr oft sind auch vergrößerte Kerne (bei nicht conjugierten Tieren) zu sehen, bei welchen eine beginnende Zerstückelung zu beobachten ist. Alle diese Prozesse bilden ein vollkommenes Gegenstück zu denjenigen der Depressions-tiere von meinen Kulturen. Die Übereinstimmung ist so groß, daß es gar nicht möglich war, die Depressions-tiere von meinen Kulturen von den sich in Conjugation befindenden Tieren des Frl. MAYER zu unterscheiden.

Beobachtungen an *Paramaecium caudatum*.

Das Material von *Paramaecium caudatum* stammte aus einer Nahrungskultur mit *Stentor coeruleus*, die ich zum Füttern von *Dileptus*-Zählkulturen¹⁾ brauchte. Die Futterkultur befand sich in einem großen cylindrischen Glas. Es wurde immer gesorgt, daß eine reichliche Bacteriennahrung in demselben vorhanden war.²⁾ Bei solchen Existenzbedingungen hat sich außerdem in der Kultur eine unzählige Menge von Paramaecien entwickelt. Von dieser Kultur habe ich nach 1 Monat zwei weitere Futterkulturen mit *Stentor coeruleus* angelegt. Die Paramaecien sind in diesen Kulturen auch mit hineingekommen. Diese neuen Kulturen wurden in derselben Weise immer reichlich gefüttert.

Am 7. Juni war zu bemerken, daß die Bewegungen der Paramaecien träge wurden, und daß die Tiere sich am Rande des Glases in großen Mengen sammelten. Das veranlaßte eine genaue Kontrolle des Zustandes der Tiere in den anderen zwei Gläsern. Dort waren dieselben Erscheinungen zu beobachten. Um die Ursache dieses Verhaltens der Tiere besser prüfen zu können, habe ich Material von allen drei Kulturen mit Pikrinessigsäure abgetötet, mit Borax-Karmin

¹⁾ Über die in dieser Richtung gewonnenen Resultate werde ich gelegentlich meiner Arbeit über *Frontonia* berichten.

²⁾ Dies wurde erreicht, indem jede 2—3 Tage frische Salatblätter in die Kultur hineingetan wurden. Durch das Faulen der Salatblätter entwickelten sich kolossale Mengen von Bacterien

gefärbt und in Nelkenöl aufbewahrt und untersucht. Dasselbe habe ich jeden folgenden Tag, bis zum 15. Juni regelmäßig vorgenommen.

Das genaue Nachprüfen der Präparate zeigte, daß die Körpergröße der Tiere abgenommen hatte, der Kern dagegen, wie deutlich aus den Fig. 15—19 zu ersehen ist, war enorm vergrößert. (Zum Vergleich habe ich ein normales *Paramaecium* in Fig. 14 abgebildet.) Durch ungleichmäßiges Wachstum nach den verschiedenen Richtungen war die ovale Kernform in unregelmäßige übergegangen und zeigte verschieden tiefe Einschnürungen und Lappungen. Das Wachstum des Kernes war am stärksten in der Richtung der Körperlängsachse, wodurch der Kern eine länglich-plumpe Form annahm. Nur selten waren in dem Kern kleine Vacuolen zu beobachten. Manchmal waren kleine achromatische Partien in demselben bemerkbar (Fig. 17). Mit der Borax-Karminfärbung bewahrte der Kern das kompakte Aussehen der Kerne ganz normaler Tiere. Die Kernvergrößerung war infolgedessen auf eine übermäßige Bildung von Chromatinsubstanz gebunden.

An den stark vergrößerten Kernen waren folgende Prozesse zu beobachten. Hier und da war zu bemerken, daß die Kernmembran an manchen Stellen aufgelöst war (Fig. 15) und daß von dort aus eine Ausstoßung von Chromatin stattfand. Diese Chromatinausstoßung ist an manchen Präparaten besonders reichlich. Das ins Plasma gelangte Chromatin wird allmählich resorbiert. Diese Prozesse bilden ein vollkommenes Gegenstück zu den Vorgängen, welche K. HERTWIG bei den in abnormen Zustand geratenen Actinosphaerien beobachtet hat. An diesen Tieren hat er gefunden, daß infolge andauernder Überernährung eine starke Kernvergrößerung und Kernvermehrung mit darauffolgender lebhafter Chromatinausstoßung stattfindet. In manchen Fällen erfolgt statt der direkten Chromatinausstoßung eine Trennung ganzer Kernteile (Fig. 17, 18), welche später im Plasma aufgelöst werden. Verschiedene Mittelstufen dieser Auflösung des Chromatins sind in den Präparaten leicht zu finden. Durch diesen letzten Prozeß auch, den ich bei *Stylonychia* schon früher erwähnt habe, findet eine Verminderung der Kernsubstanz statt.

Genau solche enorme Kernvergrößerung, Chromatinausstoßung und Kernzerstückelung konnte WL. KASANZEFF bei seinen Versuchen an hungrigen *Paramaecien* beobachten.

Alle die beschriebenen Vorgänge lassen keinen Zweifel, daß die *Paramaecien* meiner Kulturen sich in einem starken Depressionszustand befanden, dessen Ursache nach den früher erwähnten Nahrungsverhältnissen der Kultur in einer andauernden übermäßigen

Ernährung zu suchen ist. Ich war daher in Spannung über den weiteren Verlauf dieses Vorgangs, welcher ja eine Parallele zu meinen Experimenten mit *Stylonychia* bildete.

Während den ersten Tagen der Depression traten in der Kultur nur vereinzelte Conjugationen ein. Am 12. und 13. Juni aber wurde die Zahl derselben erheblich größer. Gegen 15.—16. Juni war die Depression vorüber, es war aber zu bemerken, daß die Zahl der überlebenden Tiere im Verhältnis zu den früher vorhandenen geringer war. An dieser starken Depression sind viele Tiere zugrunde gegangen und viele fanden ihre Zuflucht in der Conjugation.

Die bei *Stylonychia* gemachte Beobachtung, daß die Neigung zur Conjugation während Depressionsperioden eintritt, konnte an *Paramecium* bestätigt werden. Die Kerne der Depressions- und der Conjugationstiere waren hier auch gar nicht voneinander zu unterscheiden. In den beiden Fällen waren enorm vergrößerte Kerne von unregelmäßiger Gestalt zu beobachten. Eine besonders starke Vermehrung der Micronuclei bei den Depressionsparamecien konnte ich nicht beobachten. Wenn auch selten, habe ich doch Depressionstiere gesehen, deren Micronucleus in Teilung (Fig. 15) war und solche, welche schon zwei Micronuclei besaßen. Eine Vermehrung der Micronuclei konnte auch WL. KASANZEFF an die durch Hunger in Depression versetzten Paramecien beobachten. Bei *Paramecium* auch wie bei *Stylonychia* steht also die Teilung der Micronuclei im Zusammenhang mit der abnormen Vergrößerung des Macronucleus.

Als Anhang zu dieser Beschreibung will ich die über dasselbe Thema vorhandenen Literaturangaben kurz erwähnen.

Die in der Mitte der 80er Jahre des vorigen Jahrhunderts von MAUPAS angestellten Versuche über den Lebenszyklus verschiedener Infusorien, darunter auch *Stylonychia mytilus*, haben ergeben, daß die Lebenskurve der Infusorien eine gleichmäßig verlaufende Linie darstellen soll. Erst am Schluß der Kultur sollen Zeichen einer „dégénérescence sénile“ der Tiere eintreten, welche sich in einer abnormen Vergrößerung des Kernes, öfters auch in einer Vermehrung der Micronuclei über die Norm kundgibt. In diesem Zustand beobachtet MAUPAS die Conjugationsepidemien. Bei diesem letzten Vorgang hat er weiter die Beobachtung gemacht, daß der Conjugationstrieb in Kulturen, welche von einem einzigen Tier stammen, zu keinen richtigen Copulae führt. Sollten ausnahmsweise Copulae entstehen, sind die exconjugierten Tiere nicht imstande, lebensfähige

Generationen für längere Zeit zu erzeugen. Eine ausgiebige Conjugation hat MAUPAS erzielen können, wenn er Tiere von verschiedenen Kulturen, welche sich in „dégénérescence sénile“ oder in Perioden näher an derselben befanden, miteinander mischte. Die conjugierenden Tiere zeichnen sich immer durch geringere Körperdimensionen aus.

Wie zu ersehen, ist MAUPAS in dieser Fälle richtiger Beobachtungen nur eines entgangen, d. i. die Feststellung früherer Depressionsperioden, welche für den Verlauf einer Protozoonkultur, wie vor allem die Untersuchungen HERTWIG's und CALKINS zeigten, so charakteristisch sind. Die Ursache dieser Depressionen liegt nach den Angaben der oben genannten zwei Forscher, wie auch nach den späteren Beobachtungen WOODRUFF's in einer übermäßigen Vergrößerung des Kernes. Diese Prozesse verlaufen somit in vollkommener Parallele mit denjenigen, welche MAUPAS bei der „dégénérescence sénile“ beobachtet hat. Graphisch läßt sich daher der Lebenslauf einer Protozoonkultur mit einer wellenförmigen Linie darstellen.

Kurz zusammengefaßt sind die gewonnenen Resultate folgende

1. Die von einem nicht exconjugierten Tier angelegte Kultur von *Stylonychia mytilus* zeigte vom 1. April bis zum 16. Juli 1906 einen Wechsel von Perioden starker Vermehrung mit solchen, in welchen die Lebensfunktionen: Nahrungsaufnahme, Assimilation, Teilung zum Stillstand kamen. Das sind die Depressionsperioden.

2. Bei den Depressionsperioden zeigten die Tiere: 1. eine beträchtliche Abnahme der Körpergröße, was öfters mit einer unregelmäßig werdenden Körperform und mit Reduktion der Schwanzborsten verbunden war; 2. ein trübes oder aber anormal helles Plasma; 3. die auffallendsten Veränderungen machte der Kernapparat durch: der Macronucleus nahm enorm an Größe zu, verlor seine regelmäßige Gestalt und wurde lappig. Bei der Vergrößerung des Macronucleus trat oft eine Vakuolisierung desselben auf. Er behielt aber seine starke Färbbarkeit mit Chromatinfarben, was darauf hinweist, daß die Vergrößerung Folge einer übermäßigen Chromatinanhäufung war. Bei *Paramaecium* war die Vacuolisierung des Macronucleus weniger auffallend.

3. Die Teilung der Micronuclei steht in sehr enger Beziehung zu der Vergrößerung des Macronucleus, daher kommt es auch, daß bei Depressionstieren fast immer eine vermehrte Zahl von Micronuclei vorhanden ist.

4. Der Lebenszyklus der Stylonychienkultur läßt sich graphisch mit einer wellenförmigen Linie darstellen.

5. Zeigt diese Kurve, daß die Depressionsperioden im Lauf der Kultur immer tiefer und tiefer wurden (man vergleiche das gesetzmäßige Hinuntersinken der Depressionen von 2. Mai, 1. Juni, 15. Juni, 1.—3. Juli bis zum 15. Juli, Textfig. 1) und schließlich zur völligen Erschöpfung und Aussterben der Kultur führten.

6. Je tiefer die Depressionen wurden, desto weniger Tiere konnten sich von neuem erholen.

7. Bei der Erholung wiederholten sich in umgekehrter Reihe die Prozesse, welche zur Depression führten. Ein Teil vom Kern wird allmählich resorbiert. Dieser letzte Prozeß wird erleichtert durch Zerstückelung des Kernes (*Stylonychia*, *Paramaecium*), oder aber durch direkte Chromatinausstoßung von demselben in das umgebende Plasma (*Paramaecium*).

8. Nach Perioden tiefer Depression war sehr oft eine erhöhte Teilungsfähigkeit der Kultur zu beobachten, was besonders deutlich nach der Depression vom 1.—3. Juli hervortrat.

9. Der Trieb zur Conjugation trat nur während Perioden starker Depression ein. Die eben in Conjugation eingetretenen Tiere zeigten alle Merkmale der Depressionstiere: Aufhören der Ernährung, Abnahme der Körpergröße, abnormes Auswachsen der Macronuclei, Vermehrung der Micronuclei.

10. Bei meinen Stylonychienkulturen, welche von einem einzigen Tier seinen Ausgang nahmen, führte der Conjugationstrieb nicht zur Bildung echter Copulae. Bei der Stylonychienkultur der stud. zool. Frl. K. MAYEN dagegen, welche mit mehreren Ausgangstieren angefangen wurde, schloß die Kultur mit Conjugation.

11. Durch Conjugation beendeten die durch starke Überernährung in tiefe Depression geratenen Paramaecienkulturen. In diesen Kulturen auch war die Parallele zwischen den Depressions- und Conjugationstieren eine vollkommene.

Allgemeiner Teil.

Eine einheitliche Erklärung der beschriebenen Vorgänge ergibt sich aus der Kernplasmarelationslehre R. HERTWIG's. Hier muß ich etwas weiter ausholen. Wie bekannt besagt diese Lehre, daß der Quotient, den man erhält, wenn man die Plasmamasse durch die

Kernmasse dividiert eine gesetzmäßige Größe ist. Soweit dieser Quotient beibehalten wird, befindet sich auch die Zelle in normalem Zustand. Wird durch einseitige Begünstigung des Wachstums des Kernes oder des Plasmas allein, ein Mißverhältnis in der Größe dieser beiden Zellteile herbeigeführt, so gerät die Zelle in anormalen Zustand. Je nach der Tiefe dieser Störung findet eine partielle oder totale Sistierung der Lebensfunktionen statt. Je nach der Tiefe dieser Störung sind auch verschiedene Prozesse nötig, um die Zelle von neuem in ihren normalen Zustand zu bringen. Das nähere Verfolgen dieses Grundgedankens ergibt die folgenden Abstufungen.

1. Teilung der Zelle. Wie es R. HERTWIG von seiner Kernplasmarelationslehre ausgehend zuerst postulierte, was durch die noch nicht veröffentlichten Messungen WIERZBICKI's bestätigt wurde,¹⁾ sind in dem Kernwachstum zwischen zwei aufeinanderfolgenden Zellteilungen, zwei Momente scharf auseinander zu halten: 1. Funktionelles Wachstum des Kernes und 2. Teilungswachstum desselben. Während der ersten Periode, welche von einer Teilung bis unmittelbar zu der nächst darauffolgenden Teilung sich erstreckt, wächst der Kern im Verhältnis zum Plasma sehr langsam. Es kommt schließlich zu einem großen Mißverhältnis zwischen Kern- und Plasmagröße, das HERTWIG Kernplasmaspannung nannte. Die Zelle kommt dadurch in abnormen Zustand. Die Regulierung des Kernwachstums ist nicht mehr möglich und der Kern beginnt auf einmal sehr stark auf Kosten des Plasmas zu wachsen d. i. der Kern tritt in das Teilungswachstum ein. Er wächst bis auf das Doppelte von seiner ursprünglichen Größe heran. Dieser abnorme Zustand der Zelle wird durch die Teilung beseitigt. Die letztere ist sodann als ein Regulationsprozeß zu betrachten. Die nicht absolute Exaktheit des Teilungsprozesses bei der Zweiteilung des Kernes, noch mehr aber die allmählich sich anhäufende Vergrößerung des Kernes infolge eines andauernden Funktionierens, führt schließlich zu solchen Störungen in dem Verhältnis zwischen der Kernplasmagröße, daß eine Teilung der Zelle unmöglich gemacht wird. Infolge des übermäßigen Anwachsens des Kernes werden die Funktionen der Zelle in Stillstand gebracht.

2. Die Zelle tritt in Depression ein. Je intensiver die Zelle funktioniert, desto früher wird eine übermäßige Vergrößerung

¹⁾ Meine an *Frontonia* und anderen Infusorien ausgeführten und demnächst zu veröffentlichenden Messungen bestätigen vollkommen die Grundprinzipien der Kernplasmarelationslehre und die Folgerungen derselben bei der Teilung der Zelle.

des Kernes erzielt, desto früher werden daher die Depressionszustände eintreten. Die genaue Erforschung der Wirkung aller derjenigen Faktoren, wie Überernährung, Hunger, rasche Temperaturveränderungen nach vorangegangener starker Ernährung usw., welche alle eine schnellere Herbeiführung der Depression begünstigen, hat ergeben, daß dieselben das Wachstum des Kernes einseitig stark beeinflussen. Um wieder in den normalen Zustand kommen zu können, muß in der Zelle eine Verminderung der Kernsubstanz stattfinden. Dies erfolgt durch Chromatinausstoßung von seiten des Kernes oder durch direkte Resorption von Kernteilen von seiten des Protoplasmas. Alles das sind daher Regulationsprozesse ähnlich denen, welche von GOLDSCHMIDT, MATHEWS, von mir und von anderen Autoren auch bei der Metazoenzelle (Chromidienbildung bei stark funktionierenden Gewebszellen, bei den Geschlechtszellen usw.) beobachtet worden sind.

Im Laufe der Kultur stellen sich die Depressionen öfters und tiefer ein. Das zeugt dafür, daß die Selbstregulierung der Zelle immer schwerer und ungenügender wird. Die Resorptionsfähigkeit des Protoplasmas wird bei allzugroßem Anwachsen des Mißverhältnisses zwischen Kern und Plasma schließlich paralysiert. Die enorme Vergrößerung des Kernes kann nur noch unvollkommen oder überhaupt nicht mehr durch das Einwirken des Zellprotoplasmas rückgängig gemacht werden. Die Zelle auf sich selbst überlassen wird dem physiologischen Tode erliegen.

3. In diesen tiefen Depressionen tritt der Conjugationstrieb ein, welcher zu richtigen Conjugationsepidemien führt. Durch den Conjugationsprozeß wird eine totale Umwälzung in dem Kernapparat herbeigeführt und dadurch die Zelle wieder in ihren normalen Zustand in bezug auf die Kernplasmaverhältnisse versetzt. Der Conjugationsvorgang ist somit als ein regulatorischer Prozeß aufzufassen. Er hat als solcher einen Sinn nur bei Zellen, welche sich in äußerst abnormem Zustand befinden, d. i. bei Zellen in tiefer Depression. Dies erklärt, warum die Neigung zur Conjugation erst mit dem Alterwerden der Kultur sich einstellt. Dies erklärt ferner, warum die öfters angewandten Eingriffe zur Herbeiführung der Conjugation einen Erfolg nur bei solchen Kulturen haben. Halten wir uns einen Augenblick bei diesem letzten Punkt auf, um näher zu sehen was für Veränderungen in dem Zustand der Zelle die gebräuchlichen Conjugationsmethoden bedingen und ob sie zungunsten der hier aufgestellten These, d. i. daß jede Conjugationszelle eine Depressionszelle ist, sprechen.

Die allgemein bekannte Methode ist diejenige von MAUPAS. Sie

besteht darin, daß man Infusorien, welche lange Zeit vorher reichlich ernährt wurden, auf einmal hungern läßt. MAUPAS konnte auf die theoretische Begründung dieser seiner auf empirischem Wege angestellten Methode nicht ins klare kommen. Nunmehr können wir dies, Dank der Untersuchungen HERTWIG's und seiner Schüler. Die Versuche KASANTZEFF's an Paramaecien zeigten nämlich, daß durch das Hungernlassen der Tiere eine rasche Zunahme des Kernes herbeigeführt wird. Die durch eine übermäßige Ernährung zu tiefen Depressionen neigenden Kulturen, werden durch den Hunger sofort an den Rand einer solchen gestellt. Die in tiefe Depression geratenen Tiere finden einen Ausweg in der Conjugation. — Noch ein Beispiel HANS PRANDTL hat zahlreiche Conjugationen von *Didinium nasutum* [O. F. MÜLLER] erzielt durch die folgende, nach den hier wiedergegebenen theoretischen Überlegungen, feinsinnig kombinierte Methode. „Schon früher hatten MAUPAS, R. HERTWIG und PROWAZEK bei den verschiedensten Infusorienarten dadurch Conjugation erzielt, daß sie die Tiere nach Perioden starker Vermehrung in Hungerkulturen versetzten. R. HERTWIG fand ferner bei *Dileptus*, daß die Conjugations-epidemien bei fortgesetzter Kultur an Intensität zunehmen und kurz vor dem Eintritt von tiefen Depressionszuständen ihren Höhepunkt erreichten. Als Ursache der Depression hatte R. HERTWIG an *Actinosphaerium* das übermäßige Wachstum des Kernes im Verhältnis zum Protoplasma durch starke Fütterung nachweisen können. Er glaubt deshalb die Ursache der Conjugation in dem durch starke Fütterung bedingten übermäßigen Wachstum des Hauptkerns erblicken zu müssen. Ein weiteres Resultat der HERTWIG'schen Forschungen, daß die Zelle normalerweise bei höherer Temperatur im Verhältnis zum Protoplasma einen viel kleineren Kern besitze als bei niedriger Temperatur, legte mir folgende Überlegung nahe: Bringt man Tiere, die einige Zeit in Zimmertemperatur stark gefüttert wurden und hierdurch eine Größenzunahme ihrer Kerne erfahren haben, plötzlich in einen Brutofen von etwa 25° C, so haben die Tiere für diese Temperatur viel zu große Kerne. Gesellt man der Temperaturerhöhung noch Hunger bei, so ist den Tieren die Möglichkeit erschwert, das große Mißverhältnis von Kern und Protoplasma durch Stoffaufnahme zu regulieren. Sie sind künstlich an den Rand einer Depression gebracht. Sie werden wohl nur durch eine Umwälzung im Kernapparat imstande sein, zum normalen Zustand zurückzukehren und dies geschieht wohl am gründlichsten durch Conjugation.“

Nach dieser Methode PRANDTL's habe ich selbst viele und viele

Tausende Conjugationen von *Epistylis* bekommen. Die Tiere wurden bei reichlicher Nahrung und bei einer Temperatur von 13°–14° C kultiviert. Unter diesen Lebensbedingungen vermehrten sie sich sehr stark. Nach einiger Zeit habe ich von dieser Kultur drei Hungerkulturen abgezweigt und bei Temperatur von 25°, 22° und 17° C weiter kultiviert. Schon nach 30 Stunden trat Conjugation ein. Durch die erwähnten Conjugationsmethoden werden daher die Tiere durch äußere Einwirkungen sprungweise in den Zustand einer tiefen Depression versetzt, eine Depression, die sie bei normalem Verlauf erst viel später, vielleicht z. B. nach ein paar Monaten ohnedies erreicht hätten.

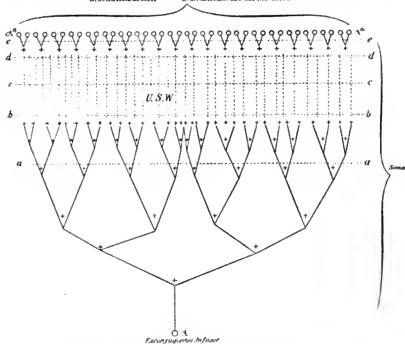
Von diesem Standpunkt über die Natur der Conjugationszellen ausgehend, werde ich im folgenden versuchen, die Schlußfolgerungen dieser Betrachtungsweise näher zu präzisieren.

Im Jahre 1882 hat WEISMANN die These aufgestellt, daß die Protozoenzelle unsterblich ist. Dank ihrer Fortpflanzungsweise durch Teilung soll sie sich bei günstigen äußeren Bedingungen ins unendliche erhalten können. Da über die Ursachen des Conjugationsvorganges damals nichts Genaueres bekannt war, wurde dieser Vorgang einseitig aufgefaßt, mit den Vererbungsfragen theoretisch verknüpft und in dem Amphimixis seine alleinige Bedeutung und kausale Begründung gesehen. Seinen Gedankengang auf die Metazoen erweiternd, erblickt WEISMANN in den generativen Zellen unsterbliche, der Protozoenzelle vollkommen gleichwertige Elemente, welche sich von Generation zu Generation weiter ins unendliche fortpflanzen können, ohne jemals von Degeneration befallen zu werden, welche letztere den Tod der somatischen Zellen allein herbeiführt. Der Tod als Faktum tritt zum erstenmal bei den somatischen Zellen der Metazoen ein und ist nicht als physiologische Notwendigkeit, sondern als Anpassungserscheinung an die Lebensbedingungen aufzufassen.

Bei Aufstellung dieser seiner These hat WEISMANN einen Grundfehler gemacht, indem er ein einziges Infusor mit einem Metazoenindividuum verglichen hat, d. h. ein Individuum höherer Ordnung (das Metazoenindividuum) mit einem solchen niederer Ordnung (die Protozoenzelle) für gleichwertig erklärt hat. Auf diesen Fehler haben besonders MINOT, MAUPAS und HERTWIG hingewiesen. Nicht das einzige Infusor ist einem Metazoon gleichzustellen, sondern die ganze Generationsfolge desselben. Präzisieren wir diese beiden für

unsere weiteren Ausführungen wichtigen Begriffe. Die Untersuchungen MAUPAS' an Infusorien, diejenigen HERTWIG's an Infusorien und besonders an *Actinosphaerium*, ferner die Untersuchungen CALKINS', LORANDE LOOS WOORDUFF's und die Ergebnisse meiner Untersuchung zeigen, daß Protozoenkulturen, von einem Ausgangstier beginnend, welche geräumige Zeit kultiviert werden, nach einer gewissen, je nach den Arten verschieden großen Zahl von Generationen in so

Geschlechtszellen = *Geschlechtsdrüse der Metazoen*



Textfig. 2. Schema I. Generationsfolge einer Protozoenzelle.

Die \bigcirc stellen die Conjunctionstiere dar. Die queren punktierten Linien $a-a$, $b-b$, $c-c$, $d-d$, $e-e$ bezeichnen die Depressionsperioden.

tiefe Depressionszustände eintreten, daß die entstandenen Defekte nicht mehr durch Selbstregulation rückgängig gemacht werden können. Die ganze Generationsfolge eines Infusors, welche allein einem Metazoen verglichen werden darf, an sich selbst überlassen, stirbt an Erschöpfung aus, sie entgeht dem Tode nicht. Alle Zellen dieser Infusoriengeneration bewahren aber infolge ihres vollkommenen

selbständigen Lebens sämtliche Funktionen, welche für das Leben eines selbständigen Zellorganismus unentbehrlich sind, intakt: die Funktion der Nahrungsaufnahme, der Assimilation, der Bewegung usw., und schließlich die Funktion der geschlechtlichen Fortpflanzung. An dem tiefen Depressionspunkt seiner Existenz angelangt, besitzen daher alle Zellen einer Infusorienzucht die Fähigkeit, dem Tode zu entgehen. Dies wird erreicht durch die Conjugation. In den bis zu diesem letzten Moment durch Zweiteilung sich fortpflanzenden agamen Generationen, welche dem Soma eines Metazoons vergleichbar sind, erwacht der Geschlechtstrieb, das Soma schwindet auf einmal und die ganze Zucht verwandelt sich in ein Geschlechtsindividuum, welches ausschließlich aus Zellen im Depressionszustand, bzw. aus Geschlechtszellen besteht (Textfig. 2).

Es fällt nun auf, daß Tiere einer und derselben Zucht, oder wie sie MAUPAS nannte, Tiere „proche parents“, selten miteinander conjugieren. Die Ursache dieses Verhaltens liegt in den gleichsinnigen Veränderungen, welche die Nachkommen einer und derselben Zelle infolge der gleichen konstitutionellen Beschaffenheit und den gleichen äußeren Existenzbedingungen erfahren haben. Durch die Conjugation solcher Zellen wird den letzteren so gut als gar nicht oder höchstens sehr unvollkommen geholfen werden, da die Vereinigung gleichsinniger Veränderungen im Plasma und im Kerne zu keinen wirksamen Gegensätzen in der Wechselwirkung dieser beiden Zellbestandteile führen wird.

Stellen wir uns jetzt vor, daß die sich teilenden Infusorien nicht aneinandergehen, sondern fest verbunden bleiben, so wird ein vielzelliger Organismus entstehen. Verfolgen wir daher näher die Genese eines Metazoenindividnums. Die je nach den Umständen befruchtete oder unbefruchtete (parthenogenetische) Eizelle, welche unserem exconjugierten Ausgangsinfusorium entsprechen würde, erzeugt durch fortgesetzte vegetative Vermehrung (Zweiteilung) tausende und tausende Zellen, die, anstatt auseinanderzugehen, fest in Geweben verbunden bleiben. Von diesem letzten Moment ab haben wir mit Faktoren zu rechnen, welche die Unterschiede bedingen, die zwischen einer Protozoenzellgenerationsfolge und einem Metazoenorganismus bestehen. Auf die Erläuterung dieser Unterschiede möchte ich gleich eingehen.

Jedes Zusammenleben der Zellen ist mit einer Arbeitsteilung bei Verrichtung der Lebensfunktionen verbunden. Die Ursachen dieser Arbeitsteilung liegen sowohl in den Beziehungen der Zellen

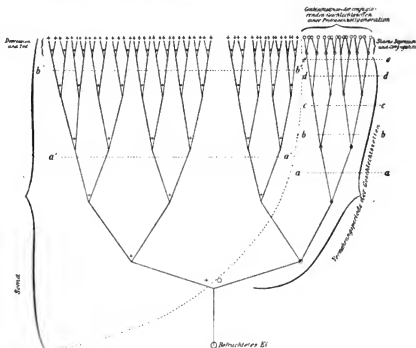
zueinander, wie auch zur Außenwelt. Je nach der Lagebeziehung zu letzterer übernehmen einige Zellen oder ganze Zellverbände das Empfangen der Reize, welche auf den Organismus einwirken (Sinneszellen und Sinnesepithelien), andere übernehmen die Atmungsfunktion, wieder andere die Verdauung usw. Hand in Hand mit dieser Arbeitsteilung und Spezialisierung in Verrichtung von nur einigen Funktionen geht eine Einschränkung in der Leistungsfähigkeit der Zelle. Sie ist nicht mehr fähig, allen denjenigen Funktionen zu genügen, welche die freie Protozoenzelle allein verrichten kann. Das Leben der einzelnen Gewebszellen und der ganzen Gewebeart ist ohne den Zusammenhang zum ganzen Organismus unmöglich. Auf die verschiedenen Mittelstufen, welche sich besonders in den koloniebildenden Flagellaten — *Eudorina*, *Volvox* usw. — auffinden lassen, Mittelstufen, welche die allmähliche Spezialisierung und Einschränkung der Funktionen der Gewebszellen zeigen, will ich nicht eingehen. Diese Sachen sind zu bekannt, um hier nochmals erwähnt zu werden.

Wie jede Zelle, geraten auch die Gewebszellen infolge des andauernden Ansübens ihrer Funktionen in Depressionszustände, die sie von Anfang an durch Selbstregulation bewältigen können. Ich erinnere nur an die Chromidienbildung stark funktionierender Zellen, welche solch einen Regulationsprozeß darstellt. Schließlich aber werden die Defekte der fortdauernden Funktion so stark, daß die Selbstregulation nicht mehr imstande ist, die Zelle von der tiefen Depression zu retten. Da die einseitige Spezialisierung der Gewebszellen ihnen des gründlichsten Mittels zu einer Renovation, den Conjugationsvorgang, beranbt hat, erliegen diese Zellen unfehlbar der Depression (Textfig. 3).

In jedem Metazoenindividuum bleiben aber, noch von der ersten Teilung der Eizelle an, Zellen bewahrt, welche in keinen Gewebeverband eintreten und bei dem Ausüben der verschiedenen Funktionen des Organismus keinen Anteil nehmen. Die besondere Stellung dieser Zellen ermöglicht es ihnen, daß sie der Zellspezialisierung entgehen und dadurch die Funktionen einer Protozoenzelle vollkommen beibehalten. Diese Zellen sind die Geschlechtszellen. Am Ende ihres Lebens treten diese Zellen von dem lockeren Verband, in dem sie sich früher befanden, heraus und leben als ganz freie Zellen weiter. Wie jede Zelle, so werden auch die Geschlechtszellen im Laufe ihrer fortgesetzten Vermehrung und ihres Wachstums in Zustände geraten, in welchen das normale Ausüben der Lebensvorgänge infolge übermäßigen Wachstums des Kernes gestört sein wird. Nach dem Voransgengangenen wird die Lebenskurve einer Generationsfolge

von germinativen Zellen, d. i. allen germinativen Zellen eines Metazoonindividuums analog der Lebenskurve einer Protozoenzucht verlaufen (Textfig. 3).

Trotzdem in den bisherigen ovo- und spermatogenetischen Untersuchungen dieser Verlauf der germinativen Zellen noch wenig berücksichtigt worden ist, lassen sich doch jetzt noch die in der



Textfig. 3. Schema II.

Metazoonindividuum; Einteilung in somatische (+) und germinative (O) Zellen. Zwischen den Depressionslinien $a-a$ und $c-c$ der Geschlechtszellen sind mehrere Zellgenerationen zu denken; desgleichen auch zwischen den Depressionslinien $a'-a'$ und $b'-b'$ der somatischen Zellen.

$a-a$, $b-b$, $c-c$, $d-d$, $e-e$ Depressionszustände der Geschlechtszellen.

$a'-a'$, $b'-b'$ Depressionen bei den somatischen Zellen.

Entwicklung der Geschlechtszellen auf Depressionszustände hin deutenden Hauptetappen feststellen. Am spärlichsten sind die diesbezüglichen Angaben während der Vermehrungsperiode der Geschlechtszellen, welche bis jetzt so gut wie gar nicht einer eingehenden Untersuchung unterzogen worden ist. Die dort sehr oft

beobachteten gelappten Kerne z. B., welche in verschiedenen Zeitabständen der Vermehrungsperiode öfters wiederkehren und welche bis jetzt die einander widersprechendsten Deutungen (wie Amitose, „Funktionszustand“ usw.) erfahren haben, werden sich nach den in dieser Richtung angestellten eingehenden Untersuchungen von Herrn Dr. ELPALJEWSKY als Depressionskerne auffassen lassen.¹⁾ Die Ähnlichkeit dieser Depressionskerne mit dem gelappten Kern eines Infusors im Depressionszustande ist geradezu überraschend. In beiden Fällen trennen sich ganze Stücke vom Kern ab, um nachher ins Plasma resorbiert zu werden. Dieser Vorgang ist bei den Geschlechtszellen auch, wie das bei den Protozoen der Fall ist, als ein Prozeß aufzufassen, welcher zu einer Verminderung der Kernsubstanz und dadurch zum Normalwerden der Zelle beiträgt.

Besser stehen wir mit den Angaben in der Wachstumsperiode der Geschlechtszellen. In einer meiner früheren Arbeiten²⁾ habe ich, ausgehend von den Ausführungen R. HERTWIG's,³⁾ auf manche solcher Depressionszustände während dieser Periode hingewiesen. Ich werde hier das früher Gesagte kurz skizzieren und bei dieser Gelegenheit etwas nachholen. Meine Beobachtungen bei der Eibildung von *Paludina vivipara* haben gezeigt, daß, von dem nach der Ovogonienteilung folgenden Leptotenstadium beginnend, Prozesse auftreten, welche zuerst zu einer Längsspaltung der Chromatinschleifen im Kern führen (Ende von Synapsis- und Anfang von Pachytenstadium). Diese Prozesse hören hier nicht auf, sondern spielen sich weiter ab und führen zu der Ausbildung von echten Tetradenchromosomen. Es ist anzunehmen, daß die Zelle sich durch diese Prozesse zur Teilung vorbereitete und zwar zweimal nacheinander. Das erstemal im Moment der Längsspaltung der Chromatinschleifen, welcher Vorgang ja, wie bekannt, jeder Teilung der Zelle vorausgeht, und das zweitemal mit der Tetradenausbildung. In den beiden Fällen aber findet die Teilung nicht statt. Vielmehr nach dem zweiten Anlauf zur Teilung, d. i. nach dem Stadium mit ausgebildeten Tetradenchromosomen, folgen Kernstadien (Diplotene, Dyctiene), welche zur Auflösung der Tetraden und zum Zurückkehren des Kernes in den Zustand vor dem Leptotenstadium führen. Betrachten wir die sich in diesen zwei Momenten abspielenden Prozesse

¹⁾ Diese mündliche Mitteilung verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. ELPALJEWSKY.

²⁾ Eibildung bei *Paludina vivipara*, Chromidien bei *Paludina* und *Helix* etc.

³⁾ Über organotypisches und cytotypisches Wachstum der Zelle.

näher, um zu sehen, ob sie nicht ein Verständnis dieser merkwürdigen abortiven Teilungsversuche der Zelle ermöglichen.

Die im Wachstum eingetretene Ovocyte, welche gerade von einem Depressionszustand im Ovogonienstadium ausgegangen ist (man achte auf die große Zahl der Zellen mit gelappten Kernen in diesem Stadium), zeichnet sich durch ein enormes Kernwachstum im Vergleich zum Protoplasma aus. Die erste vorbereitete Teilung kann infolge dieses übermäßigen Wachstums des Kernes nicht zustande kommen. Die Zelle gerät in Depression und es findet in diesem Moment eine rege Chromidienausstoßung statt. Die Zelle befreit sich dadurch so gut als möglich aus dem akuten abnormen Zustand und es wird eine neue Teilung vorbereitet. Da aber die Defekte der vorhergehenden Depression durch die Chromidienbildung in diesen Endstadien der germinativen Zellgenerationsfolge nur unvollkommen beseitigt worden sind, so kann diese zweite vorbereitete Teilung auch nicht zustande kommen. Die Zelle tritt in einen neuen abnormen Zustand ein und es folgt abermals eine reichliche Chromidienausbildung, welche die Verminderung der Kernmasse bezweckt. Daß die zwei hier verzeichneten Momente wirklich Vorbereitungen zur Teilung gewesen sind, zeigen die während derselben ausnahmsweise auftretenden echten Mitosen, nämlich im ersten Falle Mitosen mit längsgespaltenen Chromosomen, im zweiten Falle solche mit Tetradenchromosomen. Es ergibt sich somit, daß die ausnahmsweise auftretenden Teilungen bei dem Ovocytenwachstum nicht Erscheinungen ohne irgend eine tiefere Bedeutung sind. Sie sind im Gegenteil sozusagen Wegweiser, welche noch den ungestörten Verlauf dieser Vorgänge, wie sie sich abspielen sollten, zeigen.¹⁾

Durch diese aufeinanderfolgenden und immer rückgängig gemachten Depressionen kommt schließlich die germinative Zelle in einen Zustand mit enorm vergrößertem Kern. Das Wachstum der Zelle hört auf. Die Zelle gelangt in eine tiefe Depression. Die Zelle wird „reif“, wie man sagt, der Organismus selbst „geschlechtsreif“ und es tritt ein starker Geschlechtstrieb auf.²⁾

¹⁾ Eine nicht schablonenmäßig, sondern tiefer durchgedachte und nach ganz neuen Gesichtspunkten gemachte Ovo- und Spermiogenese wird viele wichtige Tatsachen zutage fördern, welche bis jetzt, eine Erklärung nicht zulassend, keine Beachtung gefunden haben.

²⁾ Daß in der Tat die Geschlechtszellen am Ende der Vermehrungsperiode wie auch in den zwei erwähnten Vorbereitungsstadien zur Teilung und vor der Richtungskörperbildung sich in einem Depressionszustande befinden, zeigen auch die vielen degenerierenden Zellen, welche sich in allen diesen Stadien beobachten lassen. Diese periodisch auftretenden Degenerationswellen konnte ich an den

Der Parallelismus mit der Infusorienzucht ist augenspringend. Wie dort die Conjugationsepidemien immer in tiefen Depressionszuständen eintraten, desgleichen tritt bei den Metazoen der Geschlechtstrieb nur dann ein, wenn die Geschlechtsprodukte in tiefem Depressionszustand gekommen sind. Dort wie hier gibt es einen sicheren Ausweg von diesem Zustande, das ist die Conjugation. Auf sich selbst überlassen, stirbt die Geschlechtszelle an „dégénérescence sénile“ ab, sie erliegt dem physiologischen Tode.

Die Parallele geht noch weiter. Ebenso wie bei den Protozoen die Conjugationen zwischen Zellen ein und derselben Zucht wegen der einseitigen Differenzierung vermieden werden, und wenn zustande gekommen, von nicht länger andauerndem verbessernden Einfluß auf die Zellen sind, genau so ist es bei den Metazoen, wo auch die Conjugation zwischen Zellen ein und derselben Zellgenerationsfolge, d. h. der Hermaphroditismus, vermieden wird.

Alle diese Auseinandersetzungen führen zu dem Schluß, daß die Geschlechtszellen im Moment der Geschlechtsreife nicht die lebensfähigsten und normalsten Zellen eines Organismus sind, sondern daß sie Zellen sind, welche sich in tiefer Depression befinden. Bei den Metazoen auch, wie das bei der Infusoriengenerationsfolge der Fall ist, hat die Conjugation, als ein Verbesserungsprozeß aufgefaßt, einen Sinn nur bei in abnormen Zustand geratenen Zellen, nicht bei normalen Zellen.

Trotzdem die These WEISMANN's für die Unsterblichkeit der Protozoen- und der Geschlechtszellen nach den Untersuchungen

Ovarien von *Paludina* beobachten. Diese Degenerationsercheinungen, welche gegen Ende der Zellgenerationsfolge (bei *Paludina* nach dem zweiten Anlauf zur Teilung und vor der Richtungskörperbildung) ihren Höhepunkt erreichen, sind wohl auf die Weise zu erklären, daß nicht alle Zellen, wie das auch bei den Protozoen der Fall ist, sich von einer Depression erholen können, vielmehr viele an derselben zugrunde gehen. Die Ursache dieses verschiedenen Verhaltens liegt in den individuellen Verschiedenheiten der Zellen, welche durch Ungleichmäßigkeiten bei der Teilung, der Ernährung u. dergl. bedingt werden. Nicht alle Zellen werden infolgedessen in genau der gleichen Lage sein, um den Regulationsprozeß durchzumachen: in diesen kritischen Momenten treten die vielen degenerierenden Zellen auf. Diese Betrachtungsweise läßt erstens tiefer in die Ursachen der Degenerationsercheinungen blicken; sie zeigt zweitens, warum diese Degenerationen immer periodisch und nur in bestimmten Phasen der Zellgenerationen einzutreten pflegen; drittens erklärt diese Betrachtungsweise, warum diese Degenerationswellen mit den oben verzeichneten Depressionsperioden zusammenfallen. — Dieselben Erwägungen, d. i. daß die Degenerationsperioden mit den Depressionsperioden zusammenfallen, behalten auch für die somatischen Zellen ihre Gültigkeit.

MAUPAS', HERTWIG'S u. a. der Boden entzogen wurde, so ist man von diesen Anschauungen noch nicht ganz losgekommen. Ist das letztere bei den Protozoen schon längst der Fall, nicht so steht es bei der Betrachtung der Geschlechtszellen der Metazoen. Man hat sich die selbstverständlich erscheinende Auffassung, daß diejenigen Zellen eines Organismus, welche Generationen durch für sein weiteres Erhalten ausersehen sind, auch die lebensfähigsten Zellen dieses Organismus sein müssen, so angewöhnt, daß sehr wenige Forscher sich mit diesen Fragen eingehender befaßt haben. Präzis und mit schwerwiegenden Beweisen wurde der Depressionszustand der Geschlechtszellen zum erstenmal von RICHARD HERTWIG am 7. Dezember 1906 in einem öffentlichen Vortrag „Über die Ursache des Todes“ hervorgehoben.

Aus seinen Protozoenstudien über die physiologische Degeneration, über die Kernplasmarelation usw. ausgehend, erweitert er seine Betrachtungen auch auf die Metazoen und kommt zu dem Schluß, daß die Geschlechtszellen Depressionszellen sind, und beleuchtet diese wichtige Frage von anderen Gesichtspunkten aus, als dies hier geschehen ist. „Wie steht es mit der Unsterblichkeit der Geschlechtszellen vielzelliger Tiere? — WEISMANN hatte angegeben und ich hatte mich zunächst seiner Darstellung angeschlossen, daß die Fortpflanzungszellen der lebenden Tiere und die Fortpflanzungszellen der Tiere früherer Jahrhunderte sich zu einer fortlaufenden Reihe anordnen lassen, in welcher jedes Glied aus einem vorangegangenen Glied durch Teilung entstanden sei, so daß wir uns die Genese der Geschlechtszellen als eine seit undenklichen Zeiten fortlaufende Reihe von Zellteilungen vorstellen können. Wir müssen nun aber die Verhältnisse etwas genauer darstellen. Wir beginnen mit dem Moment, wo in einem Embryo die Anlage der Geschlechtsorgane sichtbar geworden ist, als eine Zelle oder als ein Haufen von Zellen. Wir nennen sie Ureier. Sie vermehren sich durch fortgesetzte Teilung um so lebhafter, je größer die Fruchtbarkeit der Art ist. Auf diese Vermehrungsperiode der Ureier folgt stets die Wachstumsperiode. Die Teilungsfähigkeit der Ureier hört auf; aber nicht die Fähigkeit der Nahrungsaufnahme, was zur Folge hat, daß nun das Ei anfängt enorm zu wachsen, sowohl der Körper des Eies als auch der Kern. Beide gewinnen für eine Zelle ganz riesige Dimensionen. Schließlich kommt auch das Wachstum zum Stillstand.

Dieser ganze Vorgang hat eine große Ähnlichkeit mit den Depressionszuständen der Protozoen, und ähnlich ist auch der weitere Verlauf. Er führt entweder zum Untergang oder zur Reorganisation

der Zelle. Bei letzterer geht der Riesenkern zugrunde bis auf kleine Reste, die einen neuen Kern bilden. Wie gewaltig der Unterschied beider Kerne ist, wieviel Kerne dem partiellen Tod verfallen sind, zeigt eine Nebeneinanderstellung eines unreifen und eines reifen Eies. Nur das Reifei vermag sich weiter zu entwickeln, sei es nach vorausgegangener Befruchtung, sei es aus eigenem Antrieb parthenogenetisch. Für das Ei, welches Material für einen Organismus liefern soll und daher groß sein muß, wäre die Wachstumsperiode als eine zweckmäßige Einrichtung leicht verständlich; aber sie tritt auch in prinzipiell gleicher Weise, nur mit dem Unterschied, daß das Wachstum gering ausfällt, während der Entwicklung der Samenfäden auf, dieser kleinsten Elemente des tierischen Körpers; sie muß also eine in den Wachstumsgesetzen der Zelle tiefer begründete Ursache haben, und diese Ursache erblicke ich in der Notwendigkeit, nach langlaufenden Teilungen durch den partiellen Tod die Zelle zu reorganisieren.“

In diesen knapp und klar gehaltenen Sätzen sind die Gedanken R. HERTWIG's über die Depression der Geschlechtsprodukte enthalten. Ausführungen fast in demselben Sinne sind auch in seiner Arbeit „Über cytotypisches und organotypisches Wachstum“ zu finden, über deren Grundgedanken ich an einer anderen Stelle näher eingegangen bin.

Die Untersuchungen SIEBOLD's, LEUCKART's u. a. in den 50er Jahren des vorigen Jahrhunderts haben gezeigt, daß es Tiere gibt, deren Eier ohne vorausgegangene Befruchtung zur weiteren Entwicklung befähigt sind. Man nannte diese Art von Fortpflanzung Jungfernzeugung oder Parthenogenese. Die weiteren Untersuchungen haben ferner gezeigt, daß in den meisten Fällen, heute können wir schon sagen fast in allen Fällen, die parthenogenetische Fortpflanzung nach einer verschiedenen großen Zahl von Generationen durch geschlechtliche Fortpflanzung abgelöst wird. Diese Verhältnisse, welche besonders klar bei den Daphnoiden, Aphiden, Rotatorien usw. vertreten sind, benutzte WEISMANN, um seine Lehre von der cyklischen Fortpflanzung aufzustellen. Unter cyklischer Fortpflanzung verstand er das regelmäßige Ablösen der parthenogenetischen Fortpflanzung nach einer gewissen Zahl parthenogenetischer Generationen durch die geschlechtliche Fortpflanzung. Die cyklische Fortpflanzungsart stellt somit eine Art Heterogenie dar. Von der Beobachtung ausgehend, daß das Auftreten der geschlechtlichen Fortpflanzung (mit Dauereier)

mit den zur Erhaltung der Art in ungünstigem Sinne eintretenden Veränderungen der äußeren Bedingungen (Temperaturerniedrigung, Nahrungsmangel usw.) zusammenfällt, betrachtet WEISMANN die zyklische Fortpflanzung als Anpassungserscheinung an die wechselnden äußeren Bedingungen. Die bei günstigen Nahrungs- und Temperaturverhältnissen rasch aufeinanderfolgenden parthenogenetischen Generationen sollen eine zweckmäßige Einrichtung für die schnelle Verbreitung der Art darstellen. Mit Eintritt der Kälte und des Nahrungsmangels hört diese Vermehrungsart auf; sie wird durch die langsam verlaufende geschlechtliche Fortpflanzung ersetzt. Anfangs mit dem Wechsel der äußeren Existenzbedingungen in kausalem Zusammenhang stehend, soll sich diese Fortpflanzungsart durch die natürliche Zuchtwahl allmählich unabhängig von denselben gemacht haben und zur festen Einrichtung geworden sein.

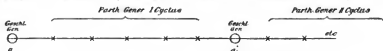
Gegen diese Erklärung WEISMANN'S sind wichtige Einwände gemacht worden, welche derselben den Boden unhaltbar machen. Ich werde sie in Kürze erwähnen, da sie für unsere weiteren Auseinandersetzungen von Wichtigkeit sind. -- Die Untersuchungen MAUPAS' und NUSSBAUM'S zeigten unzweideutig, daß die Temperatur und die Ernährung Faktoren sind, unter deren Wirkung die parthenogenetische Fortpflanzung bei den Rotatorien durch die geschlechtliche abgelöst wird. Maßgebend für das Auftreten der letzteren ist die niedrige Temperatur (MAUPAS) und der Hunger (NUSSBAUM).

Ferner fand DE KERHÉVÉ bei den Daphnoiden, daß die mangelhafte Ernährung als Reiz wirkt, welcher das Ablösen der parthenogenetischen Fortpflanzung durch das geschlechtliche herbeiführt. Besonders unzweideutige und einheitliche Resultate über die Rolle, welche die Temperatur und die Ernährung für das Auftreten der geschlechtlichen Fortpflanzung bei den Daphnoiden spielen, haben die Experimente AL. ISSAKOWITSCH'S ergeben. An Kulturen von der Daphnoide *Simnocephalus vetulus* hat er gefunden, daß bei günstigen Existenzbedingungen (Temperatur 25° und reichliche Ernährung) fort-dauernd parthenogenetische Generationen entstehen. Im Lauf der Kultur ist zu beobachten „daß je länger die Tiere sich parthenogenetisch fortpflanzen, desto größer wird in ihnen die Tendenz zur geschlechtlichen Fortpflanzung überzugehen, desto leichter kann man sie durch eine geeignete Maßregel dazu veranlassen“. Die parthenogenetische Entwicklung wird durch die geschlechtliche abgelöst, wenn man Tiere von der oben erwähnten Kultur (25° C) in Kälte (8° C) bringt, oder sie hungern läßt. Ferner haben die Experimente gezeigt, daß nach 4 Monaten lang geführter, immer parthenogenetisch

sich fortpflanzender Kultur schließlich Tiere erzeugt werden, deren Eier nicht mehr imstande sind parthenogenetisch sich weiter fortpflanzen, „Die Eier wurden ja gegen Ende der Kulturen entwicklungsunfähig, zerfielen im Brutraum“. Der Verfasser schließt daraus „im Eierstock waren also durch die zu stark ausgezogene Parthenogenesis Mißstände eingetreten“.

Sehen wir wie diese auffallenden Erscheinungen von dem hier vertretenen Standpunkte über die Natur der Geschlechtsprodukte aufzufassen sind, und ob dadurch die cyklische Fortpflanzungsart dem Verständnis näher gerückt werden kann.

Der Begriff einer cyklischen Fortpflanzung verlangt es, daß nach einer, je nach den Arten, wechselnden Zahl parthenogenetischer Generationen, Geschlechtsprodukte entstehen, welche für ihre weitere Entwicklung der Befruchtung unbedingt bedürfen. Tritt dieser letzte Vorgang nicht ein, so zerfallen die Eier. Das Bild einer cyklischen Fortpflanzung läßt sich dem Gesagten zufolge in folgender Weise graphisch darstellen (Textfig. 4), in welchem Schema zwischen je zwei



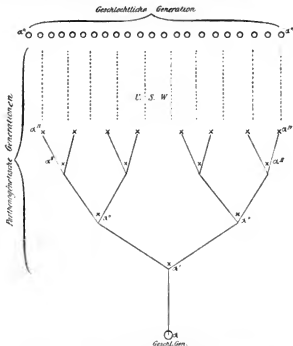
Textfig. 4. Schema III. Cyklische Fortpflanzung.

aufeinanderfolgenden Geschlechtsperioden a — a' mehrere parthenogenetische Generationen eingeschaltet sind.

Exakter läßt sich der Lauf einer cyklischen Fortpflanzung nach dem folgenden Schema darstellen, in welchem die einzelnen Punkte (x) ganze Tiere bezeichnen (Textfig. 5).

Was lehrt uns dieses Schema und wie sind die ihr zugrunde liegenden Tatsachen aufzufassen? Das von einem befruchteten Ei α entstandene parthenogenetische Weibchen α' besteht wie jedes Metazoon aus vielen durch Teilung des Eies entstandenen Zellengenerationen, welche sich nach den schon früher besprochenen Prinzipien der Gewebedifferenzierung in somatische und germinative Zellen sondern. Lenken wir unsere Aufmerksamkeit auf die germinativen Zellen. Nach einer gewissen Zahl fortlaufender Teilungen entstehen hier Zellen, welche sich durch einen enorm großen Kern auszeichnen: die Teilung kommt zum Stillstand, d. h. die Zellen sind in Depression geraten. Diese Zellen sind die parthenogenetischen Eier. Sie werden frei. Durch eine Umwälzung in dem Kernapparat, vermöge starker Chromidienbildung und Abschnürung von Richtungskörpern, wird der Kern vermindert, die Zelle kehrt in den normalen Zustand zurück

und die Teilung beginnt von neuem. Es wird eine neue Reihe von Zellgenerationen gebildet, welche nach den früher erwähnten Prinzipien wieder eine Einteilung in somatische und germinative Zellen eingehen werden. Diese rege Zellvermehrung mit reichlicher Nahrungszufuhr führt schließlich wieder zu einer Depression der germinativen Zellen. Es entstehen parthenogenetische Eier, welche durch Umwälzung in dem Kernapparat wieder in normalen Zustand zurückkehren und zum Ausgangspunkt für neue parthenogenetische



Textfig. 5. Schema IV. Cyclische Fortpflanzung.

a und a^x — a^x geschl. Generationen. — a^{II} , a^{III} , a^{IV} etc. parth. Generationen.

Generationen werden usw., der Prozeß wiederholt sich mehrmals. Diese fortwährenden Depressionen, welche je eine parthenogenetische Generation kennzeichnen, führen schließlich gegen das Ende der Kultur zu Zuständen, welche die weitere parthenogenetische Fortpflanzung unmöglich machen. Die Selbstregulation des Eies durch Chromidienausstoßung und Richtungskörperbildung ist nicht mehr genügend, um es aus dem tiefen Depressionszustande von neuem zu

beleben. Sich selbst überlassen stirbt das Ei unter Zerfallerscheinungen des Kernes. Ein Ausweg bleibt der germinativen Zelle, d. i. die geschlechtliche Fortpflanzung.

Die Parallele, welche sich durch die Aufeinanderfolge der Erscheinungen bei der cyklischen Fortpflanzung mit dem Verlauf einer Protozenkultur ergibt, ist auffallend. In beiden Fällen treten, nach einer gewissen Zahl durch Selbstregulation der Zelle rückgängig gemachter Depressionen, schließlich Zustände ein, die zu so tiefen Depressionen führen, daß deren Defekte durch Selbstregulation nicht mehr überwunden werden können. In dieser Periode tritt der Conjugationstrieb ein.

Diese Parallele geht aber noch weiter. Wie bei einer Infusorkultur durch energisches Eingreifen (Kältewirkung, Hunger usw.) das enorme Wachstum des Kernes sehr rasch herbeigeführt wird und dadurch die lange Reihe von Zellgenerationen, welche bei normalen Existenzbedingungen (gleichhochbleibende Temperatur und reichliche Nahrung) durchlaufen werden muß, auf ein Minimum verkürzt werden kann, so ist es auch mit der cyklischen Fortpflanzung. Hier kann auch durch Einwirkung von Kälte, Hunger usw. die parthenogenetische Fortpflanzungsweise gleich durch die geschlechtliche abgelöst werden. Es kann somit auch hier ein Sprung in der Entwicklung erzielt werden, durch welchen die Generation α'' z. B. sich auf einmal in dem Zustand der Zelle der Generation α versetzt findet (Textfig. 5). Nachdem wir nunmehr die Wirkung der Temperatur, des Hungers usw. auf das Kernwachstum kennen, sind uns diese Prozesse leichter verständlich.

Die Schlüsse, welche sich von diesen Betrachtungen über die cyklische parthenogenetische Fortpflanzung ziehen lassen, sind folgende:

1. Die parthenogenetischen Eier sind germinative Zellen, welche sich im Depressionszustand befinden. Dieser Zustand ist aber noch solcher Natur, daß er durch die Selbstregulation der Zelle rückgängig gemacht werden kann.

2. Durch die sich wiederholenden Depressionen, welche je eine parthenogenetische Generation bezeichnen,¹⁾ werden schließlich die Defekte der Zelle so tief, daß diese sich durch Selbstregulation nicht mehr erholen kann: sie stirbt ab oder conjugiert.

¹⁾ Es ist sehr wahrscheinlich, daß die germinativen Zellen in den engen Rahmen einer parthenogenetischen Generation andere leichtere Depressionen durchmachen. Beobachtungen in dieser Richtung fehlen vor der Hand gänzlich.

3. Es besteht ein großer Parallelismus zwischen dem Verlauf eines Fortpflanzungszyklus (parthenogenetische Fortpflanzung mit darauffolgender geschlechtlicher Fortpflanzung) und einer Protozoengenerationsfolge.

4. Eine zyklische Fortpflanzung, wenn auch nicht ganz im Sinne WEISMANN's, existiert. Die Ursachen dieser Fortpflanzungsart sind diejenigen, welche jede lebende Zelle beherrschen, mit der andauernden Funktion derselben eng verknüpft sind und zu dem wellenförmigen Verlauf der Lebensvorgänge führen. Die Idee von der zyklischen Fortpflanzung ist daher nicht zurückzuweisen, wie dies manche Forscher versucht haben.

5. Über die Bedingungen, welche mitgewirkt und dazu beigetragen haben, daß die depressionierten germinativen Zellen bei den Tieren mit zyklischer Fortpflanzung sich immer von dem Verband der anderen germinativen Zellen lösen, nach außen vom Organismus befördert werden und dadurch nach den Prinzipien der histologischen Differenzierung notwendigerweise jedesmal neue Organismen liefern, muß man sich zur Zeit mit vagen Vermutungen begnügen. Ausführungen hierüber sind vor der Hand wertlos.

Am Ende angelangt, will ich noch die gewonnenen Resultate über die künstliche Parthenogenese kurz besprechen.

Die Untersuchungen von TICHOMIROW, von R. HERTWIG, LOER, DELAGE usw. haben gezeigt, daß es möglich ist, gereifte und befruchtungsbedürftige Eier ohne vorausgegangene Befruchtung, bloß durch Einwirkung von mechanischen und chemischen Reizen zur weiteren Entwicklung anzuregen. Bestimmtes über die Art und Weise der Wirkung dieser Reize wissen wir bis jetzt noch nicht.

Ähnliches wurde auch von CALKINS und WOODRUFF an den Protozoen erzielt. In Momenten starker Depression konnte CALKINS den Conjugationstrieb der Infusorien — in vorliegendem Falle *Paramacium* — durch chemische Einwirkungen rückgängig machen. WOODRUFF gelang es, eine zum physiologischen Tode neigende Kultur von neuem zu beleben, indem er die Nahrung wechselte oder durch Chemikalien auf die Kultur einwirkte. Ziehen wir das früher über die parthenogenetische Entwicklung bei der zyklischen Fortpflanzung Gesagte in Betracht und vergleichen wir die dort gewonnenen Anhaltspunkte mit den Verhältnissen bei der künstlichen Parthenogenese, so ergibt sich, daß in den beiden Fällen verschieden alte germinative Zellen sind, welche die Fortpflanzung weiter besorgen. Im ersten Fall, d. i. bei der parthenogenetischen zyklischen Fort-

pflanzung, sind es Depressionszellen, welche noch selbst regulationsfähig sind, im zweiten Fall, d. h. bei der künstlichen Parthenogenese, sind es Zellen, welche am Ende einer Zellgenerationsfolge stehen und ohne das Herantreten der Befruchtung oder der Einwirkung äußerer Agentien unfehlbar zugrunde gehen werden. In beiden Fällen haben wir also Vorgänge, welche, wenn auch prinzipiell nicht verschieden sind, doch gradnell auseinander zu halten sind.

Im Anschluß an diese Ausführungen möchte ich die Parthenogenese der Bieneneier anführen. Wie bekannt, werden ein und dieselben Bieneneier, je nach den Umständen befruchtet (Arbeiterinnen-eier), oder sie werden beim Ausbleiben dieses letzten Vorganges zur weiteren parthenogenetischen Entwicklung (Drohneneier) befähigt. Die eigenartigen Fortpflanzungserscheinungen, welche sich in dieser Hymenopteren-Familie abspielen, stehen von den Vorgängen bei der cyklischen Fortpflanzung ganz abseits. Denn bei den Bienen sind es befruchtungsbedürftige, also tief depressionierte und folglich nicht mehr selbstregulationsfähige Eier, welche trotzdem beim Ausbleiben der Befruchtung sich weiter normal entwickeln können. Wie sind diese merkwürdigen Verhältnisse und scheinbar so schwerwiegenden Ausnahmen zu erklären? Haben wir vielleicht bei der Parthenogenese der Bienen nicht mit ganz ähnlichen Vorgängen, wie sie sich bei einer künstlichen Parthenogenese abspielen, zu tun? Diese Möglichkeit habe ich schon früher aus Anlaß von anderen theoretischen Betrachtungen in einer meiner Arbeiten¹⁾ ausgesprochen. In der Tat, wie bei der künstlichen Parthenogenese, so sind es auch bei den Bieneneiern genau vergleichbare germinative Zellen, welche in Betracht kommen. In beiden Fällen haben wir Zellen, welche an der Endreihe einer Zellgenerationsfolge stehen. Das parthenogenetische Bienenei ist somit nach dem früher bei der künstlichen Parthenogenese Gesagten nicht ohne weiteres mit denjenigen germinativen Zellen, welche die parthenogenetischen Eier der cyklisch sich fortpflanzenden Tiere darstellen, vergleichbar. Auch hier ist, wenn nicht ein prinzipieller, so doch ein wichtiger gradueller Unterschied vorhanden. Wenn auch bei den Hymenopteren sich alle Übergänge zwischen den extremen Zuständen von Parthenogenese der Bienen und der cyklischen Fortpflanzung auffinden lassen, die Ausnahmestellung der Bienenparthenogenese bleibt trotzdem bestehen. Ich möchte mich hier nur beschränken, dieselbe hervorzuheben unter Hinweisung der vorhandenen Ähnlichkeit zwischen

¹⁾ Eibildung bei *Paludina vivipara* etc.

den parthenogenetischen Geschlechtszellen der Bienen und dem Zustand der Fortpflanzungszellen bei der künstlichen Parthenogenese. Ich möchte mich hier nicht einlassen auf die Frage, ob diese Ähnlichkeit auch noch tiefergehender Natur ist, wie es mir wahrscheinlich erscheint. Anhaltspunkte darüber fehlen noch gänzlich und die diesbezüglich ausgesprochenen Vermutungen werden vor der Hand belanglos sein.

München, den 25. Januar 1907.

Literaturverzeichnis.

- 1882 BUTSCHLI, O.: Gedanken über Leben und Tod. Zool. Anz. Bd. V p. 64.
 1889 —: Protozoa. BRONN's Klassen und Ordnungen des Tierreichs.
 1902a CALKINS, GARY N.: Studies on the Life-history of Protozoa. I. The Life-Cycle of *Paramecium caudatum*. Arch. f. Entwicklungsmechanik der Organ. Bd. XV.
 1902b —: Studies on the Life-history of Protozoa. II. The Effect of Stimuli on the Life-Cycle of *Paramecium caudatum*. Arch. f. Protistenk. Bd. I.
 1902c —: Studies on the Life-history of Protozoa. III. The six Hundred and Twentieth Generation of *Paramecium caudatum*. Biol. Bull. Bd. V.
 1904 —: Studies on the Life-history of Protozoa. IV. Death of the A-Series of *Paramecium caudatum*. Conclusions. Journ. of Exper. Zool. Vol. I.
 1882 CHOŁODKOWSKY: Tod und Unsterblichkeit in der Tierwelt. Zool. Anz. Bd. V p. 264.
 1883 GOETTE: Über den Ursprung des Todes. Hamburg und Leipzig. 81 S.
 1904 GOLDSCHMIDT, R.: Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. Zool. Jahrb. Bd. XXI. Anat.
 1889 HERTWIG, R.: Über die Konjugation der Infusorien. Abh. d. Kgl. bayr. Akad. d. Wiss. Kl. II Bd. VII Aht. I.
 1892 —: Über Befruchtung und Konjugation. Verh. d. deutsch. Zool. Ges.
 1899 —: Was veranlaßt die Befruchtung der Protozoen? Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München Heft I.
 1900 —: Über physiologische Degeneration bei Protozoen. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München Heft I.
 1902a —: Über Wesen und Bedeutung der Befruchtung. Sitz.-Ber. d. Kgl. bayr. Akad. d. Wiss. Bd. 32 Heft I.
 1902h n. 1903 —: Über das Wechselverhältnis von Kern und Protoplasma. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München 1. Nov. 1902 u. 19. Mai 1903.
 1903c —: Über Korrelation von Zell- und Kerngröße und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle. Biol. Centralbl. Bd. XXIII Nr. 2.
 1904 —: Über physiologische Degeneration bei *Actinosphaerium eichhorni*. Festschr. f. HAECKEL. Jena (G. Fischer).
 1905 —: Über das Problem der sexuellen Differenzierung. Verh. d. deutsch. Zool. Ges. in Breslau.

- 1906a —: Über Knospung und Geschlechtsentwicklung von *Hydra fusca*. Biol. Centralbl. Bd. XXVI.
- 1906h —: Über die Ursache des Todes. Öffentl. Vortrag, 7. Dez. (Erschienen in Allgem. Ztg. Nr. 288—289).
- 1906 ISSAKOWITSCH, AL.: Geschlechtsbestimmende Ursachen bei den Daphnoiden. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 69.
- 1901 KASANZEFF, WL.: Experimentelle Untersuchungen über *Paramacium caudatum*. Inaug.-Diss. Zürich.
- 1892 KERHÉVEZ, DE: De l'apparition provoquée des males chez les Daphnies. Mém. soc. Zool. France. Tome V.
- 1888 MAUPAS, E.: Sur la multiplication des Infusoires ciliés. Arch. Zool. expér. et gén. Bd. VI Ser. II.
- : Le rajouissement karyogamique chez les ciliés. Arch. Zool. expér. et gén. Bd. VII Ser. II.
- 1884 MINOT, S.: Death and Individuality. Science Vol. IV Nr. 90 p. 398—400 (New-York).
- 1884 MÖBIUS: Das Sterben der einzelligen und der vielzelligen Tiere vergleichend betrachtet. Biol. Centralbl. Bd. IV p. 389.
- 1897 NUSSBAUM, M.: Entstehung des Geschlechts bei Hydatina. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 49.
- 1907 POPOFF, M.: Eihildung bei *Paludina vivipara*. Chromidien bei *Paludina* und *Helix* etc. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 70.
- 1897 VERWORN, M.: Allgemeine Physiologie.
- 1880 WEISMANN, A.: Beiträge zur Naturgeschichte der Daphnoiden. I. Über die Fortpflanzung der Daphnoiden. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 33.
- 1882 —: Über die Dauer des Lebens. Jena. Tageblatt der 54. Vers. deutscher Naturf. u. Ärzte in Salzburg.
- 1884 —: Über Leben und Tod. Eine biologische Untersuchung. Jena. 85 S.
- 1905 WOODRUFF, LORAND LOSS: An experimental Study on the Life-history of *Hypotrichus Infusoria*. Journ. of exper. Zool. Vol. II Nr. 4.

Tafelerklärung.

Tafel IV.

Sämtliche Abbildungen sind mit dem ZEISS'schen Zeichenapparat, Oc. 1 Obj. 7 (nur Fig. 19 u. 20 mit Obj. 3) bei normaler Tubuslänge auf der Höhe des Mikroskopisches gezeichnet.

Fixierung — Pikrinessigsäure; Färbung — Boraxkarmin.

Fig. 1. Normale *Stylonychia mytilus*.

Fig. 2—10. Stylonychien in Depressionszustand, aus Kulturen stammend, welche sich durch Selbstregulation erholen konnten. In allen Figuren tritt die starke Vergrößerung der Macronuclei und die meist stattgefundene Vermehrung der Micronuclei sehr scharf hervor. — Fig. 8 u. 10. Zerstückelung der vergrößerten Macronuclei.

Fig. 11—13. Stylonychien in Depression aus einer Kultur, welche mit Conjugation endete. Die große Parallele zwischen den Kernverhältnissen dieser conjugationsreifen Tiere (Vergrößerung der Macronuclei und Teilung der Micronuclei) und den Depressionsstieren in Fig. 2—10 ist augenspringend. — In Fig. 12 Zerstückelung der Macronuclei und Teilung der Micronuclei (vgl. Fig. 8 u. 10).

Fig. 14—20. Paramaecien in Depression, aus einer Kultur, welche mit Conjugation endete.

Fig. 14. Normales *Paramaecium caudatum*.

Fig. 15 u. 16. Depressionstiere mit vergrößertem Macronucleus. Austritt von Chromatin aus dem Kern. In Fig. 15 Teilung des Micronucleus.

Fig. 17 u. 18. Zerstückelung des Macronucleus (vgl. Fig. 8, 10, 12). In Fig. 17 achromatische Teile in dem Macronucleus.

Fig. 19. Ein Depressionsparamaecium mit enorm vergrößertem Macronucleus.

Fig. 20. Conjugierende Paramaecien. Die starke Vergrößerung der Macronuclei weist darauf hin, daß die Tiere sich in Depression befinden (vgl. mit den übrigen Figuren).

Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

Lebensgeschichte der Mastigamöben
***Mastigella vitrea* n. sp. u. *Mastigina setosa* n. sp.**

Von
Dr. Richard Goldschmidt.

(Hierzu Tafel V—IX und 20 Textfiguren.)

Inhalt.	Seite
Einleitung	84
I. Historisches	85
II. Das vegetative Leben der <i>Mastigella vitrea</i> und <i>Mastigina setosa</i>	90
1. <i>Mastigella vitrea</i>	91
2. <i>Mastigina setosa</i>	108
3. Bemerkungen über Klebkörner und Geißel	114
4. Die vegetative Vermehrung der <i>Mastigella</i> und <i>Mastigina</i>	122
III. Die geschlechtliche Fortpflanzung der <i>Mastigella vitrea</i> und <i>Mastigina setosa</i>	127
1. <i>Mastigella vitrea</i>	127
A. Die Entwicklung der Macrogametocyten	128
B. Die Entwicklung der Microgametocyten	136
C. Die Copulation und metagame Entwicklung	139
2. <i>Mastigina setosa</i>	143
A. Die Macrogametocyten	144
B. Die Microgametocyten	146
C. Die metagame Entwicklung	148
IV. Systematisches	152
Schluß	163
Literaturverzeichnis	163
Tafelerklärung	166

Einleitung.

Ein glücklicher Zufall gab mir Gelegenheit, mich mit der Lebensgeschichte zweier neuer Arten von Mastigamöben zu befassen, die ich bis zu einem gewissen Grade aufzuklären vermochte, worüber auch bereits in einer vorläufigen Mitteilung knrz berichtet wurde (GOLDSCHMIDT 1907). Die betreffenden Formen fanden sich in einer zu Kurszwecken benutzten Kultur von *Spirostomum*, die Herr Kollege NERESHEIMER im letzten Sommer aus einem Torfstich in der Nähe von Seehausen am Staffelsee mitgebracht hatte. Sie treten dort — wenigstens gilt das für die erste Art — in so ungeheuren Mengen auf, daß eine Zeitlang beliebig viel Material zur Verfügung stand. Dazn fanden sich die Tiere in einer lebhaften Fortpflanzung begriffen, so daß es möglich war, wenigstens für die eine Art den vollständigen Cyklus festzustellen, ohne die bei Schlammbewohnern so unsicheren Dauerkulturen. Die zweite Art kam neben der ersten immer nur vereinzelt vor, so daß ihre Lebensgeschichte auch noch einige Lücken aufweist. Die Untersuchung wurde selbstverständlich zunächst vor allem am lebenden Objekt ausgeführt, das wegen seiner vollständigen Durchsichtigkeit auch die feinsten Strukturen im Leben erkennen läßt. Die Ergebnisse wurden dann an Präparaten kontrolliert und erweitert. Wegen eben dieser Durchsichtigkeit genügte auch die Anfertigung von Totalpräparaten mit den erfahrungsgemäß für Protozoen günstigen Methoden, also in erster Linie Pikrinessigsäurekonservierung und Boraxkarminfärbung, welche von der raffinierten Histologie so verachtete primitive Methode für Protozoenstudien immer noch an erster Stelle steht. Gute Konservierung gab auch Sublimat, weniger befriedigend Osmiumgemische, CARNOY'sche und PETRUNKEWITSCH'sche Flüssigkeit. Schöne Färbungen liefert sehr verdünntes DELAFIELD'sches Hämatoxylin und eine primitive Form der VAN GIESON-Methode mit pikrinsäurehaltigem Hämatoxylin, die oft der HEIDENHAIN-Färbung ähnliche Bilder liefert. Es ist noch zu bemerken, daß von der ersteren Art die meisten der zu schildern-den Stadien mir in lebendem Zustand wie im Präparate hundertmal in der gleichen Weise vorlagen. Eine Ausnahme machen nur gewisse seltene Stadien, wie die Teilungsfiguren, von denen es im Text besonders bemerkt werden wird. Auch von der zweiten Art habe ich die meisten der zu besprechenden Bilder oft, wenn auch nicht so oft wie dort, gesehen.

Für mich selbst hatte die vorliegende Untersuchung ein besonderes Interesse, weil sie mir Gelegenheit gab, die Anschauungen,

die ich mir in der für die Protozoenkunde so wichtigen Chromidienfrage hauptsächlich auf Grund von Untersuchungen an Metazoenzellen und unter Verwendung der an der Protozoenzelle gewonnenen Erfahrungen gebildet hatte, selbst an der Protozoenzelle zu erproben. Es wird sich zeigen, daß diese Probleme auch hier im Vordergrunde liegen und deshalb ist es mir auch eine besondere Genngtung, diese Arbeit dem Forscher widmen zu können, der durch die Schaffung des Chromidienbegriffes und den Nachweis der Möglichkeit der Entstehung von Tochterkernen aus solchen, der Protozoenforschung wiederum ganz neue Wege gewiesen hat, RICHARD HERTWIG, dem ich, wie so viele, die er in den 25 Jahren des akademischen Amtes wissenschaftlich und menschlich gefördert hat, ein steter Schuldner bin.

I. Historisches.

Unter Mastigamöben oder Rhizomastiginen versteht man eine Gruppe von Organismen von rhizopodenartigem Habitus, die aber durch den Besitz einer oder mehrerer Geißeln ein Bindeglied zwischen Amöben und Flagellaten zu sein scheinen. Wenn wir von dem *Podostoma filigerum* CLAPARÈDE und LACHMANN'S (1857), das jetzt allgemein zu *Amoeba radiosa* gestellt wird, absehen, stammt die erste Beobachtung eines solchen Organismus von CARTER (1864), der eine nur kurze Beschreibung einer geißeltragenden Amöbe als *Amoeba monociliata* gibt. Die genaueren Kenntnisse beginnen erst mit der bekannten Arbeit von F. E. SCHULZE (1875), der eine von ihm in Graz entdeckte Form als *Mastigamoeba aspera* in die Literatur einführte. Sie ist ausgezeichnet durch spindelförmige Gestalt, fingerförmige abgerundete Pseudopodien, ein spitzes Vorderende und abgerundetes Hinterende, ein hyalines Ectoplasma und körniges Entoplasma; die lange Geißel entspringt von dem Vorderende und führt peitschende Bewegungen aus, wird auch manchmal tastend nach vorn gestreckt, oder in korkzieherartigen Wellen bewegt, kann auch erschlafft ruhen. Mit ihrer Insertionsstelle steht ein ausgezogener Fortsatz des Kernes in Verbindung, der ein klumpiger Körper ist, bei der Bewegung aber seine Form verändert, bald queroval, kugelig, eiförmig oder eckig erscheint. Beim Vorwärtskriechen treten abwechselnd rechts und links vom Geißelursprung Pseudopodien auf, die dann beim Vordringen des Tieres allmählich mehr zur Seite rücken. Der Name *aspera* wird daher abgeleitet, daß die ganze

Oberfläche des Tieres dicht mit stark lichtbrechenden Stäbchen besetzt ist, die in ihrer Form dem *Bacterium termo* ähneln. Sie liegen mit ihrer Längsachse der Rindenoberfläche parallel, nur selten stehen sie von ihr ab. Sie sind nicht zu verwechseln mit den Zöttchen, die sich auch hier wie bei vielen anderen Amöben am Hinterende des kriechenden Tieres bilden. Die nächste genauere Darstellung einer Mastigamöbe stammt von O. BÜTSCHLI (1878), der der dort als „geißeltragender Rhizopode“ beschriebenen Form später (1884) den Namen *Mastigamoeba lobata* (STEIN) gab und die KLEBS als *M. bütschlii* nen benannte. Sie ist charakterisiert durch ziemlich geringe Größe, sehr fein zugespitzte Pseudopodien, eine oder zwei contractile Vacuolen, vor allem eine Geißel von 8—10facher Länge des Körpers, die entweder nur an ihrem äußersten Ende schraubenartige Drehungen ausführt oder in ihrer ganzen Länge hin- und herpeitscht. Die Insertionsstelle der Geißel kann langsam um den ganzen Körper herumlaufen. Die Bewegung ist meist rhizopodenhaft, manchmal aber streckt sich das Tier in die Länge, ohne die Pseudopodien einzuziehen und schwimmt dann nach Flagellatenart. Der Kern liegt dann regelmäßig am Vorderende. BÜTSCHLI erinnert dabei an Beobachtungen von CIENKOWSKY (1862) und TATEM (1869). Eine Anzahl neuer Mastigamöben beschrieb bald darauf SAVILLE KENT (1880—81) und faßte sie als Ordnung unter dem Namen Rhizoflagellata zusammen. Er beschreibt *Mastigamoeba simplex* ausgezeichnet durch ein langes Pseudopodium am Hinterende, *M. ramulosa* charakterisiert durch reichverästelte Pseudopodien, welche dem Tier ein *Aeolis*-artiges Aussehen geben, als *Reptomonas caudata*, eine monadenartige Form, die mit auf der Unterseite entstehenden Pseudopodien kriecht, und als *Rhizomonas verrucosa* eine mit konischen Pseudopodien versehene meist festsitzende Form. Mit den unvollständigen Beschreibungen KENT's wird man aber wohl nie viel anfangen können. Die Kenntnisse über unsere Gruppe faßte danu BÜTSCHLI in seinem Protozoenwerk zusammen und stellte die Familie der Rhizomastigina als 1. Familie der Unterordnung Monadina auf, zu der er die Gattungen *Mastigamoeba*, *Ciliophrys*, *Dimorpha*, *Actinomonas* stellt. Die letzteren 3 Formen, die zeitweise in ihrem Leben heliozoenartig erscheinen, seien in dieser Übersicht aber beiseite gelassen, da sie sich von den eigentlichen Mastigamöben weit entfernen, vielleicht auch zu einer ganz anderen Gruppe zu stellen sind. Näheres darüber bei CIENKOWSKY (1876), GRUBER (1882), KLEBS (1892), BLOCHMANN (1894), KENT (1880—81), MEYER (1897). Hier sei noch eine Notiz von HEIDER (1886) erwähnt, der mitteilt,

daß er bei *Mastigamoeba aspera* und *lobata* deutlich den Ursprung der Geißel aus dem Kern feststellen konnte.

Das Jahr 1892 bringt gleichzeitig von zwei Seiten eine wesentliche Vermehrung unserer Kenntnisse der Rhizomastiginen. KLEBS gibt in seiner großen Flagellatenarbeit neue Daten an über *Mastigamoeba bitschlii*, *ramulosa* und die neu beschriebene *invertens*. Letztere ist dadurch charakterisiert, daß beim Schwimmen die Geißel nach vorn gerichtet ist, beim Kriechen nach hinten. Er beobachtete auch zum erstenmal eine Querteilung während des Kriechens. Von besonderem Interesse sind seine theoretischen Erörterungen über die Stellung der Rhizomastiginen unter den Flagellaten, auf die noch im systematischen Abschnitt zurückzukommen sein wird. Ausführliche Daten gibt er über *Dimorpha* an, auf die wir aber hier nicht eingehen. Gleichzeitig erschien FRENZEL's Arbeit, die unsere Kenntnisse über diese Formen durch ausgezeichnete Beobachtungen an verschiedenen neuen Formen vermehrte. Wir müssen sie etwas genauer referieren, weil sie die eingehendsten Mitteilungen über unsere Gruppe enthält, die bisher vorliegen. Als *Tricholimax hylae* beschreibt er eine Form aus dem Euddarm der Kaulquappen von *Hyla pulchella*. Die Gestalt ist walzenförmig, das Vorderende beim Kriechen stumpf, das Hinterende in einige Läppchen ausgezogen. Das Eutoplasma zeigt eine lebhaft Fontäneuströmung, die in der Mitte nach vorn gerichtet ist. Der Kern liegt am vorderen Ende und scheint mit der Geißel in Verbindung zu stehen, welche nur kurz ist und keine Schwingungen vollführt. Sie hat nur Kerulänge, ist gerade oder gekrümmt und fehlte sogar bisweilen völlig. Als *Micromastix januarii* wird eine Form eingeführt, deren Geißel nicht ganz Körperlänge erreicht. Sie entspringt, ohne mit dem Kern zusammenzuhängen, am vorderen Pol von einem Zapfen und schlägt schnell in kurzen flachen Wellen. Die Pseudopodien sind kurz fingerförmig und bleiben beim Schwimmen erhalten. — *Mastigella polymastix*, die Gattung, der ich auch die eine der von mir zu schildernden Formen einreihen will, ist eine typisch amöbenartige Form, streckt nach allen Seiten fingerförmige Pseudopodien aus, von denen sie bei schneller Vorwärtsbewegung aber auch frei sein kann. Charakteristisch ist die zwischen 1 und 4 schwankende Geißelzahl. Sie treten nicht direkt aus dem Körper heraus, sondern sitzen auf einem konischen, zapfenförmigen Pseudopodium. Bei der Vorwärtsbewegung schwingt nur die nach vorwärts gerichtete Geißel lebhaft. „Liegt das Tier am Fleck, so braucht die Tätigkeit der Geißel nicht aufzuhören; sie schwingen entweder, wenn auch langsam, weiter, oder sie wechseln in blitz-

schnellem Sprunge ihren Ursprung, indem der sie tragende Zapfen bald hierhin bald dorthin wandert, eine Bewegung, die oft so lebhaft ist, daß man kaum imstande ist, die Anzahl der Geißeln festzustellen. . . .“ Der Kern liegt central und hat mit dem Geißelnrsprung gar nichts zu tun. Die scharfe Körperkontur deutet auf eine dichtere Hantschicht hin. Das Ectoplasma ist feinkörnig, das Entoplasma mit Fettkügelchen und Algen angefüllt. — *Lamulina unica* ist dadurch charakterisiert, daß sie die Geißel am Zöttchen tragenden Hinterende trägt. Die Gestalt ist amöbenartig, die Pseudopodien stülpen in der Mitte einen Bruchsack aus, von dem ein schlanker Abschnitt ausgeht. Die Geißel ist träge, kann nicht zur Fortbewegung dienen und endigt stumpf, fast mit einem kleinen Knöpfchen. Zwei abwechselnd sich contrahierende Vacnolen sind vorhanden. — *Mastigina chlamys* ist die Form, der die zweite der hier zu schildernden Amöben besonders nahe steht. Die Form ist im Ruhezustand die einer flach gedrückten Kugel, bei der Bewegung walzenförmig mit dem dickeren Ende nach vorn, während am Hinterende einige Lappen entstehen. Gewöhnlich schwimmt der Organismus mit der Geißel voran nach Flagellatenart. Die Geißel entspringt aus dem am vorderen Pole liegenden Kern und mißt beim erwachsenen Tier die doppelte Körperlänge, bei jüngeren Individuen hat sie schon dieselbe Länge und ist bis 10 mal so lang wie das Tier. Sie kann wie eine Flagellatengeißel schwingen und kann mit dem Kern unter der Oberfläche nach einer anderen Stelle wandern. Über dem Kern wölbt sich ein von der Geißelbasis durchsetzter Plasmazapfen vor, der, wenn der Kern wandert, noch eine Zeitlang neben dem Kern bestehen kann. Das Hauptcharakteristikum dieses Tieres ist aber die merkwürdige Hautschicht. Sie ist 2μ dick, wenig lichtbrechend und deutlich quergestreift. Am Schwanzende verdünnt sie sich beträchtlich oder fehlt ganz. Daß die Querstreifung der Hautschicht auf einem Stäbchensaum beruhe, lehnt Verfasser ausdrücklich ab. Bisweilen wurde auch die Bildung von langen, spitzen heliozoenartigen Pseudopodien beobachtet, besonders bei jungen Tieren, bei denen sie dann hin und herpendelten. Von Vacnolen findet sich entweder eine einzige contractile oder mehrere nicht contractile. Das dichte Plasma ist mit Fettkügelchen und Nahrung gefüllt. — *Mastigina paramyxon* erscheint mehr flagellatenförmig und ist nur durch den „Maulbeeranhang“ am Hinterende als Mastigamöbe gekennzeichnet. Die Geißel entspringt aus dem am vorderen Pole liegenden Kern. — *Mastigamoeba schulzei* ähnelt in der äußeren Form der *M. aspera*, unterscheidet sich aber durch die langen, spitzen,

pfriemenförmigen Pseudopodien, die sich gabeln können, sogar bisweilen gefiedert erscheinen. Bei schneller Bewegung werden aber all diese Pseudopodien eingezogen. Die lange Geißel entspringt aus dem Kern, der länglich ausgezogen ist und unter der Oberfläche am Vorderende des Körpers liegt. Die Körperoberfläche ist dicht mit Stäbchen bedeckt, die gewöhnlich unter einem spitzen Winkel zur Oberfläche stehen und zwar gruppenweise nach verschiedenen Richtungen, so daß eine schachbrettartige Anordnung entsteht. Auf den Pseudopodien stehen sie weniger dicht. Eine Vacuole fehlt. Gelegentlich wurde ein Exemplar mit zwei Kernen beobachtet, von denen aber dem einen die Geißel fehlte. Einmal wurde ein kugeliges Tier gefunden ohne Geißel und Kern. Statt dessen fanden sich zwei große kugelige Körper, die aus dicht liegenden Körnchen bestanden. FRENZEL vermutet dahinter einen ihm unbekannt gebliebenen Fortpflanzungsmodus.

Aus neuerer Zeit sind endlich noch einige Arbeiten zu erwähnen, die dem Bilde von dieser Tiergruppe aber nichts Wesentliches mehr zufügen. So schildert MEYER (1897) ein *Mastigamoeba commutans*, die der KLEBS'schen *M. invertens* sehr ähnlich ist. Interessant ist an ihr, daß die contractile Vacuole während ihrer Entstehung die hintere Hälfte des Körpers durchwandert, wobei sie alle möglichen Gestalten annimmt. Die Contraction erfolgt aber immer an einer bestimmten Stelle des Hinterendes. In einer Zusammenstellung der bis dahin bekannten Arten werden FRENZEL's Beschreibungen überhaupt nicht berücksichtigt. Man hat diesen, aus welchen Gründen weiß ich nicht, ein gewisses Mißtrauen entgegengebracht. Ich freue mich, feststellen zu können, daß seine Beobachtungen vielfach mit denen, die ich an sehr ähnlichen Formen machen konnte, übereinstimmen und, wenn man von der anschließlichen Beobachtung des lebenden Objektes absieht und der meist nur kurzen Beobachtungsdauer, durchaus zuverlässig erscheinen. MOROFF (1904) beschreibt neu *Mastigamoeba radicata*, *limax*, *polyvacuolata*, *Dimastigamoeba simplex* und *agilis*. *M. radicata* ist ausgezeichnet durch ein hyalines Ectoplasma, das beim Schwimmen das Vorderende bildet und sich scharf vom körnchenhaltigen Entoplasma absetzt, nicht sehr lange Pseudopodien und zwei contractile Vacuolen von denen die eine hinten liegt, die andere wandert. Der Kern liegt an der Grenze des hyalinen Plasmas. *M. limax* zeigt ein gleichmäßiges Vorwärtsfließen unterbrochen durch ein schnelles Vorwärtsschnellen. Die ganze Formveränderung erinnert an *Amoeba limax*. Die Geißel von 2—3facher Körperlänge entspringt vom Kern und wandert mit ihm bei Wechsel

der Bewegungsrichtung unter der Körperoberfläche. Die contractile Vacuole wird mit dem Plasmastrome herumgeführt und systolisiert an verschiedenen Stellen. *M. polyvacuolata* ist gekennzeichnet durch den Besitz zahlreicher Vacuolen, von denen immer einige zusammenfließen und sich dann entleeren. Der Körper erscheint knorrig, die Geißel kaum länger als der Körper. Bei der zweigeißeligen *D. simplex*, die ein Zwischenglied zwischen *Rhizomastiginen* und *Bodoninen* darstellen soll, wurde die Zweiteilung beobachtet, ebenso bei der *D. agilis*, die sehr lebhaft schwimmen kann und vor der Teilung keine Ruhepause macht wie *D. simplex*.

Schließlich hat in jüngster Zeit BÜRGER (1906) einige Mitteilungen über Mastigamöben gebracht. Er beschreibt *Mastigamoeba eilhardi* als ausgezeichnet durch ein großes konisches, nach vorn gerichtetes Pseudopodium, auf dessen Spitze die Geißel sitzt. Am Hinterende entspringen viele kleine kammförmige Pseudopodien, die auch verästelt sein können. Dazu können noch seitliche fingerförmige Pseudopodien kommen. Die Geißel scheint mehr zum Tasten als zur Bewegung zu dienen und ist von dem großen im Entoplasma gelegenen Kern unabhängig.

Im vorstehenden wurden nur die wichtigsten Mitteilungen über Mastigamöben besprochen. Dazu kommen allerdings noch eine ganze Anzahl mehr gelegentliche Nachrichten und kleinere Mitteilungen wie die von STOKES (1886, 1888, 1889), GOURRET u. ROSER (1888), PÉNARD (1890), PROWAZEK (1900, 1903). Hier sei nur zum Schluß noch eine Angabe von K. C. SCHNEIDER (1905) erwähnt, der mitteilt, daß er Gelegenheit hatte, eine Mastigamöbe zu beobachten, die er als *M. aspera* SCHULZE betrachtet. Seiner Beschreibung und Abbildung nach hatte er die hier als neue Art beschriebene *Mastigina setosa* vor sich, die er somit entdeckt hat. Eine nähere Schilderung gibt er nur von den Borsten, auf die wir späterhin zurückkommen werden. Es erhellt aus vorstehendem wohl, daß die bisherigen Kenntnisse von dieser Tiergruppe noch recht dürftig sind.

II. Das vegetative Leben der *Mastigella vitrea* und *Mastigina setosa*.

Wenn ich nunmehr dazu übergehe, meine Beobachtungen an *Mastigella vitrea* n. sp. und *Mastigina setosa* n. sp. zu schildern, so will ich dies tun, ohne vorher die Berechtigung der Aufstellung

dieser neuen Arten und ihrer Einreihung in die FRENZEL'schen Genera zu erörtern. Um Wiederholungen zu vermeiden und in Anbetracht dessen, daß dies neben der Anhellung der Lebensgeschichte dieser Form eine mehr untergeordnete Frage ist, sei dies bis zum Schluß des speziellen Teiles für einen besouderen systematischen Abschnitt aufgespart.

1. *Mastigella vitrea*.

Wie der Speziesname der ersteren Form besagt, ist sie auf den ersten Blick charakterisiert durch ihre ganz außerordentliche Durchsichtigkeit. Sie wird nur selten vermißt, oder richtiger gesagt, getrübt, wenn das Tier sich so vollgefressen hat, daß die stark lichtbrechenden Nahrungsteile eine Untersuchung verhindern, hier und da auch, wenn die später zu besprechenden lichtbrechenden Körnchen sich in besonders reichem Maße vorfinden. Abgesehen von diesen Fällen wüßte ich kein Protozoon, das sich mit *Mastigella* messen könnte. Die feinsten Details, z. B. der Kernstruktur, lassen sich am lebenden Objekt ohne jede Pressung enthüllen. Es hat dies auch eine allgemeine Bedeutung im Hinblick auf die jetzt besonders in Histologenkreisen beliebte Überkritik in der Benrtellung der fixierten Präparate. Ich kann versichern, daß die zartesten Strukturen, die im Leben zu erkennen waren, wie z. B. das schöne konzentrische Wabenwerk, das der Kern in gewissen Stadien aufweist, im fixierten Präparat nach Anwendung der gebräuchlichen Reagentien auf das allergenauste das Bild des Lebens wiederholten. *Mastigella* gehört mit zu den größten unter den bekannten Geißelamöben. Im Ruhezustand maß ich an erwachsenen Tieren bis zu 125 μ Durchmesser, bei wandernden Tieren einen Längendurchmesser von über 150 μ bei 40 μ Breite. Im Zustand völliger Ruhe, in dem man sie allerdings nur direkt nach der Übertragung auf den Objektträger findet, hat sie annähernd Kugelgestalt. Das Protoplasma erscheint dabei völlig einheitlich, bis zum Rand mit den verschiedensten Inhaltskörpern durchsetzt, nirgends etwa in ein Ecto- und Entoplasma gesondert. Lange kann man sie aber so nicht beobachten. Bald sieht man am Rande unter den Körnchen des Protoplasma einen Tumult entstehen und an dieser Stelle bricht plötzlich ein breiter hyaliner Saum hervor und zwar nicht gleich in voller Breite, sondern von einem Punkt beginnend löst er sich sozusagen fortschreitend vom übrigen Plasma ab. Dies geschieht gleichzeitig an mehreren Stellen des Körpers, so daß das Tier schließlich von einer Anzahl breiter und völlig hyaliuer Buckel umgeben ist. Erst nach einiger Zeit sieht man auf

der Spitze eines solchen Buckels kleine zapfenartige Pseudopodien sich vorwölben, wie es in Textfigur A nach dem Leben gezeichnet ist und bald verbraucht sich der ganze Buckel zur Bildung eines Büschels von Pseudopodien. Diese sind zunächst kurz fingerförmig,

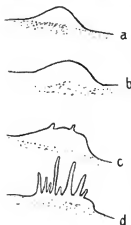


Fig. A.

strecken sich dann mehr in die Länge und können bald plumper, bald feiner werden. Dies Spiel tritt nun auf der ganzen Oberfläche des Tieres ein, das nun bald in der Art wie viele Amöben seine Pseudopodien nach allen Seiten ausstreckt, wie es das Habitsbild Fig. 2 Taf. V sehr schön zeigt. Die Form der Pseudopodien, die nie wesentlich länger werden, als hier abgebildet, wechselt dabei fortwährend, ohne daß im Protoplasma irgend eine Strömung wahrzunehmen wäre. Bald werden sie an einer Stelle eingezogen zu einem hyalinen Buckel, der wieder verschwindet, oder von der Oberfläche des Tieres zu einer anderen Stelle wandert, bald werden einzelne eingezogen

und an derselben Stelle wieder andere vorgestreckt. Dann wölbt sich auch einmal ein langer konischer Zapfen hyalinen Plasmas nach einer Seite vor, an dessen Rändern Pseudopodien gebildet werden, so daß es den Anschein hat, als ob das Tier nach dieser Richtung fließen wolle. Er wird aber ebenfalls wieder eingezogen. Von einer bestimmten Richtung, die die Pseudopodien zum Körper einnehmen, kann man natürlich hier nicht reden, ebensowenig wie man in der üblichen Weise sie als einfach oder an der Basis verästelt bezeichnen kann. Isolierte Pseudopodien sind einfach, wölbt sich aber das Ectoplasma, auf dem sie stehen, im ganzen vor, dann erscheint ein großes peripher verästeltes Pseudopodium und gelegentlich beobachtet man auch, daß ziemlich weit peripher an einem fingerförmigen Pseudopod sich ein Seitenast bildet. So kann das Spiel lange Zeit, tagelang, weitergehen, ohne daß dabei die *Mastigella* ihren Ort verändert. Ich fand sie bisweilen nach 24 Stunden, die sie unter einer 2 mm Immersion sich befand, noch an derselben Stelle des Gesichtsfeldes, manches Mal nur eine ganz kleine Strecke entfernt. Während dieser Zeit findet sich die Geißel an irgend einer Stelle der Körperoberfläche, ihr genaueres Verhalten soll aber erst später im Zusammenhang geschildert werden.

Nicht immer hält aber die Ruhe so lange an, sondern unser Tier begibt sich auf die Wanderschaft. Der Habitus, den es dabei annimmt, ist gut aus den Fig. 3 nach dem Leben und 38 und 39 nach Präparaten zu erkennen. Zunächst wölbt sich ein breiter, hyaliner, konischer Lappen vor, auf dessen Spitze die Geißel wandert und mit dem auf diese Weise markierten Vorderende fängt das Tier zu kriechen an. Dabei hat der vorausgehende ganz hyaline, also rein ectoplasmatische Teil einen bedeutenden Umfang, etwa ein Viertel der Gesamtlänge. An seiner Seitenwand bilden sich während des Kriechens — die Geißel nimmt an der Bewegung gar keinen Anteil — abwechselnd kürzere oder längere fingerförmige Pseudopodien, die aber erst eine Strecke weit hinter dem vordersten konischen Zapfen beginnen. Ihre Zahl ist aber nie sehr groß; meist sind sie in der Richtung der Bewegung ausgestreckt und werden nach kurzem Bestand wieder eingezogen und durch neue ersetzt. An den Seiten des Körpers, der oft viel länger noch als in den Abbildungen, fast wurmartig, ausgezogen ist, werden nur selten vereinzelte Pseudopodien ausgestreckt und wieder eingezogen. Das Hinterende erscheint hingegen öfters in der schönen Weise morgensternartig mit Pseudopodien bedeckt, wie es Fig. 3 nach dem Leben und 38 nach einem Präparat zeigt. In diesen Fällen erscheint es wie eine einheitliche Kugel und durch eine Ringfurche vom übrigen Körper abgesetzt. Diese Form ist aber nur bei langsamer Bewegung zu erkennen, bei schnellerer werden nur einige wenige Pseudopodien am Hinterende gebildet und bei sehr schneller sind nur einige stumpfe Lappen am Hinterende zu sehen, wie z. B. Fig. 39 zeigt. Gelegentlich findet man dann auch das Hinterende in einige feine Spitzen ausgezogen, die in vergrößerter Form dasselbe darstellen, was man als Spitzchenbesatz usw. von vielen kriechenden Amöben, besonders schön bei *Pelomyxa* ausgebildet, kennt (Fig. B). Die Bewegung ist eine stetige kriechende oder gleitende, verursacht durch die Strömung des Protoplasmas. Dies führt uns dazu, auf dieses selbst jetzt einen Blick zu werfen.

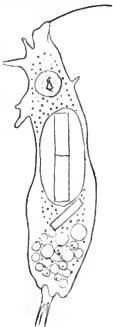


Fig. B.

Das ohne Einlagerung von Fremdkörpern oder Körnchen völlig durchsichtige Protoplasma ist im Ruhezustand gleichmäßig strukturiert und nur, wenn Pseudopodien ausgestreckt werden, ist ein Ecto- und Entoplasma getrennt. Die Trennung ist um so schärfer, je körnchenreicher das letztere ist. In letzterem Fall erscheint das Entoplasma manchmal als eine scharf konturierte Kugel vom Ectoplasma abgesetzt (Fig. C). Auch bei Tieren auf der Wandschaft

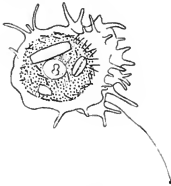


Fig. C.

erscheint die Grenze am vorderen Ende oft als eine scharfe spitzwinklig nach vorn geknickte Linie. Das Entoplasma ist fast immer — nur bei ganz jungen Tieren wird es vermißt — reichlich von großen und kleinen Vacuolen durchsetzt. In besonders großen liegen mehr oder weniger verdaute Nahrungsbestandteile, die übrigen sind einfach von einer durchsichtigen Flüssigkeit erfüllt (Fig. 2, 3). Stets im Entoplasma liegen ferner der Kern, die contractile Vacuole

und andere, bald zu besprechende Einschlößkörper. Es ist außerdem der Sitz der Strömung, oder richtiger gesagt, sie ist in ihm am stärksten, da man nicht annehmen kann, daß das pseudopodienbildende Ectoplasma unbeweglich ist, wenn auch der Mangel an Körnchen die Strömung selbst nicht erkennen läßt. Wir werden allerdings später sehen, daß die Ectoplasmabewegung im wesentlichen wohl passiv ist. — Sehr stark ist sie übrigens im Entoplasma auch nie. Bei nichtwandernden Tieren besteht sie bloß in einem explosionsartigen Einbrechen eines Entoplasmastromes in die breite Basis einer frisch gebildeten Pseudopodiengruppe, dann herrscht sogleich völlige Ruhe, auf der Wanderung ist es eine sehr langsame und kontinuierliche Fontänenbewegung.

Von der feineren Struktur des Protoplasmas ist im Leben für gewöhnlich nicht viel zu sehen, da es eine ziemlich gleichmäßige Lichtbrechung zu besitzen scheint. Nur in einem Moment im Leben, im Beginn der Encystierung, tritt, wie wir später schildern werden, die feinere Struktur plötzlich hervor und zwar in der gleichen Weise, wie sie im gefärbten Präparat zu beobachten ist. In Fig. 31 ist das Vorderende eines Tieres abgebildet, das im Begriff steht, sich

auf die Wanderschaft zu hegeben und zwar bei sehr starker Vergrößerung. Da sieht man, daß das Ectoplasma aus einem außerordentlich feinen und gleichmäßigen Wabeuwerk besteht, während das Entoplasma eine viel gröbere und wegen der stärkeren Fährbarkeit seiner dicken Wabenwände undeutlichere Schaumstruktur aufweist. Was aber besonders interessant erscheint, ist, daß von dem Entoplasma aus durch das Ectoplasma hindurch feine aber sehr deutliche fadenartige Stränge ziehen, die in die Pseudopodien eintreten und deren Achse bis zur Spitze durchsetzen. An der gezeichneten Stelle sieht man diese Achsenfäden in allen Stadien ihrer Bildung. Links erstrecken sich drei geradenwegs zur Körperoberfläche, auf der sich aber noch keinerlei Pseudopodien gebildet haben, wo sich aber nach dem im Leben Beobachteten beim Kriechen weiterhin solche bilden werden. Nahe der Spitze sieht man zwei kleine höckerförmige, gerade beginnende und rechts zwei ausgebildete Pseudopodien, alle im gleichen Verhältnis zu den Achsenfäden. Es wäre natürlich sehr interessant, näher das Verhältnis dieser Achsenfäden zum Entoplasma festzustellen, d. h. zuzusehen, ob sie aus einer Reihe Waben, oder wenigen längsgezogenen Alveolen bestehen oder nur aus der Substanz der Wabenwände. Ich vermochte bei der Feinheit der Strukturen, um die es sich hier handelt, aber nichts Bestimmtes darüber festzustellen, neige aber mehr der letzteren Meinung zu. Natürlich darf man sich die Achsenfäden nicht so vorstellen wie etwa bei einem Heliozoon. Starre Gebilde können sie bei ihrer Fähigkeit auszuwachsen und schnell wieder zu verschwinden nicht sein. Daß ihnen aber trotzdem eine gewisse Festigkeit zukommen muß, ist bei der ihnen zukommenden physiologischen Bedeutung wahrscheinlich. Auf diesen Punkt will ich aber erst später bei Besprechung der Bedeutung der Geißelstrukturen im 3. Abschnitt eingehen, da diese beiden Kapitel auf das engste miteinander verknüpft sind. Ich möchte nur noch bemerken, daß die eben gegebene Schilderung keine zufälligen Befunde darstellt, sondern an guten Präparaten und zum genauen Studium genügend flach ausgestreckten Tieren stets in der gleichen Weise zu beobachten ist.

Bei der lebenden Amöbe erscheint die Oberfläche des Körpers von einer sehr scharfen Grenzlinie umsäumt, die bisweilen auch einen leicht grünlichen Schimmer haben kann. Es fragt sich, ob wir hier von einer Art Pellicula reden wollen. In der Tat müssen wir eine solche, wenn auch sehr labile Struktur annehmen; ihr Vorhandensein tritt besonders deutlich beim Beginn der Pseudopodienbildung hervor,

wo das charakteristische an einer Stelle beginnende Loslösen des Ectoplasmaabuckels von ihr bedingt zu sein scheint. Sie überzieht auch alle Pseudopodien, muß also entweder sehr dehnbar sein oder ständig neugebildet und wieder eingeschmolzen werden. Daß die Beobachtung im Leben nicht auf Täuschung beruht, beweisen auf das deutlichste die Präparate. In diesen sieht man auf das schönste die Pellicula als scharfe Linie, wohl zu unterscheiden von der äußersten Wabenschicht, dem Alveolarsaum, und am besten ist sie an den Pseudopodien zu erkennen, deren zarter Inhalt, wenn sie länger sind, bei der Konservierung leicht schrumpft und dann die gefaltete äußere Membran deutlich zeigt. Übrigens ist das Vorhandensein einer solchen Pellicula für die großen Mastigamöben nichts Ungewohntes.

Wenn ich mich nunmehr den Einschlüssen des Protoplasma zuwende, so bestehen diese natürlich in erster Linie aus Nahrungsbestandteilen. Die interessanten Vorgänge bei der Nahrungsaufnahme werden erst weiter unten beschrieben werden, hier sei nur bemerkt, daß die Tiere meist mit unverdauten Nahrungsresten vollständig vollgepfropft angetroffen werden, in weit höherem Maß als dies bei den zur Abbildung gewählten Formen Fig. 2 und 3 der Fall ist. Meist liegen die betreffenden Dinge getrennt in besonderen Vacuolen, manchmal findet man aber auch alle Reste in einer riesigen

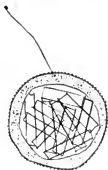


Fig. D.

Vacuole angesammelt, die den eigentlichen Körper des Tieres nur als einen sie umgebenden Saum erscheinen läßt (Fig. D). Wenn wir von der Nahrung also absehen, so müssen wir von eigentlichen Protoplasmaeinschlüssen unterscheiden die lichtbrechenden Körnchen, die Bacteroiden und die Klebkörner. Die ersteren sind sehr kleine und sehr stark lichtbrechende Körperchen, die, soweit man ihre Gestalt beurteilen kann, nicht kugelig, sondern unregelmäßig geformt sind. Sie fehlen eigentlich nie, wechseln aber in ihrer Menge außerordentlich. Manchmal sind nur wenige vorhanden, manchmal erfüllen sie

auch dicht das ganze Entoplasma, wie schon erwähnt wurde. Über ihre chemische Natur vermag ich nichts auszusagen, halte aber eine Beziehung zu den nachher zu besprechenden Klebkörnern für wahrscheinlich.

Merkwürdiger sind die Bacteroiden, wenn ich diesen nichts vindizierenden Ausdruck beibehalten darf. Im Körper der *Mastigella* fehlen sie fast nie in ihrer charakteristischen Gestalt von säulenförmigen Kristallnadeln. Ihre Größe variiert sehr; bald sehen wir kurze Stäbchen von etwa $3\ \mu$ Größe, die oft in Reihen hintereinander liegen, bald längere von $10\ \mu$. Sie liegen stets innerhalb des Entoplasmas, manchmal wie in Fig. C zahlreich auf der Grenze von Ecto- und Entoplasma. Besonders typisch ist ihre Anordnung in der Nähe des Kernes, den sie oft strahlig umgeben oder wie in ein dichtes Nest einhüllen. Sind nur wenige vorhanden, so können wir sicher sein, sie in der Nähe des Kernes zu finden; sind sie zahlreich, so liegen sie überall im Plasma zerstreut, und zwar den durch die Vacuolen bedingten Zügen des Plasmas eingeordnet, oft auch zu Bündeln vereinigt. Dabei findet man häufig Tiere, die ganz frei von ihnen sind, andere aber, die sie in geradezu unglaublicher Weise beherrschen, so daß man besonders in der weiteren Umgebung des Kernes kaum das Plasma sieht, in das sie eingebettet sind. Ihre Verteilung in den verschiedensten Lebenszuständen ist auf den meisten Abbildungen zu erkennen und bedarf deshalb keiner weiteren Erläuterung. Im lebenden Tier fallen sie sogleich durch ihren matten seidigen Glanz an, im Präparat erscheinen sie durch Kernfarbstoffe mittelstark gefärbt. Irgend eine feinere Struktur an ihnen wahrzunehmen gelang weder im Leben noch im Präparat, sie erschienen stets gleichmäßig homogen. Natürlich bemühte ich mich, irgend eine Gesetzmäßigkeit ihres Auftretens und ihrer Menge herauszufinden; das einzige Resultat in dieser Beziehung ist, daß ich sie in besonders großer Menge in den Teilungsstadien auffand, und dies regelmäßig.

Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß wir es hier mit denselben Bildungen zu tun haben, die schon lange aus verschiedenen Rhizopoden bekannt sind; so vor allem aus *Pelomyxa*, wo sie unter den verschiedensten Bezeichnungen als die Glauzkörper umlagernd beschrieben werden. Ich kann aus eigener Anschauung bezeugen, daß diese Stäbchen und Bacterioiden der *Pelomyxa*, abgesehen von der geringeren Größe, den hier beschriebenen Dingen völlig gleichen. Vollständig identisch sind sie mit den von GRUBER (1884) für *Amoeba binucleata* angegebenen und für kommensale Pilzfäden erklärten Stäbchen, eine Ansicht, der sich auch SCHAUDINN (1895) anschloß. Da diese Amöbe (oder wohl besser *Pelomyxa*) auch in meiner Mastigamöbenkultur in Mengen vorkam, konnte ich mich von der völligen Identität der Bildungen überzeugen. Über ihre Natur wage ich

aber kein bestimmtes Urteil abzugeben, da Versuche, sie auf chemischem und optischem Wege zu ermitteln, mißlingen. Bei *Pelomyxa* soll es ja gelungen sein, diese Stäbchen in Reinkultur zu züchten und so als Bacterien zu erweisen. Die Bacteroiden der *Mastigella* wuchsen jedenfalls auf Agarnährboden nicht. Ihre auffallenden Beziehungen zum Kern und die Tatsache, daß sie am reichlichsten in sich teilenden großen, also sicher reichlich ernährten Tieren angetroffen werden, lassen es mir aber viel wahrscheinlicher erscheinen, daß es sich um kristallisierte Reservestoffe handelt. Dagegen wäre allerdings zu halten, daß sie später, wie wir sehen werden, in den Cysten nicht angebracht werden. Eine Entscheidung über ihre Natur wird aber wohl nur auf chemischem Wege möglich sein.

Ein sehr interessanter Bestandteil des Leibes der *Mastigella* sind die Bildungen, die ich als Klebkörner bezeichnen möchte. Auf ihre Beziehungen zu Bildungen, die von anderen Mastigamöben her bekannt sind, will ich erst im 3. Abschnitt im Zusammenhang eingehen und jetzt nur die Befunde mitteilen. Es handelt sich um kleine Körner von kurz stabförmiger Gestalt (im optischen Durchschnitt sind sie kreisrund), die zwar kein konstantes Vorkommen sind, wenn sie aber vorhanden sind, eine sehr charakteristische Lage einnehmen und wahrscheinlich eine bestimmte Funktion erfüllen. Im ruhenden Tier sind sie, wenigstens nicht in ihrer typischen Lage, an der Körperoberfläche zu finden, dagegen werden sie beim wandernden Tier nie vermißt. Und zwar findet man sie hier ausschließlich am hinteren Ende. Ist dieses mit Pseudopodien bedeckt, so überziehen sie auch diese, wie sehr schön Fig. 3 u. 38 zeigt. Im allgemeinen stehen sie begreiflicherweise dabei auf deren Oberfläche weniger dicht wie an der Körperoberfläche, da sie beim Ausstrecken der Pseudopodien ja auseinandergezogen werden. Sind keine Pseudopodien vorhanden, dann haben wir das Bild wie in Fig. 39. (In diesen Figuren sind die Körner nur auf einem Teil des Hinterendes vollständig dargestellt und sind auf der ganzen Oberfläche zu ergänzen.) Die Klebkörner liegen nun nicht innerhalb des Protoplasmas, sondern oberflächlich auf der Pellicula, der sie mit ihrer Längsseite angeschmiegt sind. Die gegenseitige Anordnung in Bezug auf ihre Achse ist ganz unregelmäßig. Auch in den Fig. 54 u. 61 ist ihr massenhaftes Auftreten auf der Oberfläche kenntlich. Es fragt sich nun, wo diese Gebilde herkommen und welche Funktion sie haben. Was ersteren Punkt anbetrifft, so kann ich darüber nur Vermutungen äußern. Bei ruhenden Tieren findet man bisweilen im Entoplasma ganz ähnliche Gebilde, die vielleicht darauf schließen

lassen, daß sie von dort her an die Oberfläche wandern. Bemerkenswert ist aber vor allem eine anscheinende Beziehung der Körner zum Kern. Man findet nämlich bisweilen — aber ohne daß sich ein regelmäßiger Unterschied zwischen ruhenden und nichtruhenden Tieren feststellen ließe — den Kern umgeben von einem Kranz stets nur in einer Reihe gestellter, radiär angeordneter Stäbchen, die nach Lichtbrechung im Leben und Färbung im Präparat genau den Klebkörnern gleichen, nur bisweilen, aber nicht immer, kleiner sind. Sie sind gut in Fig. 3, 4, 65 zu erkennen. Bei Betrachtung von der Oberfläche erscheinen sie wie vollständig regelmäßig in gleicher Distanz aufgestellte Kreischen. Ich erachte es nicht für ausgeschlossen, daß wir hier an der Kernoberfläche den Bildungsherd der Körner vor uns haben.

Was die Funktion der Körner anbetrifft, so muß ich vor allem die Bezeichnung Klebkörner rechtfertigen. Dies geschieht aus der Beobachtung ihres Verhaltens bei der Wanderung, bei der Cystenbildung und bei der Nahrungsaufnahme. Es wurde schon erwähnt, daß sie bei der Wanderung sich stets am Hinterende des Tieres anhäufen. Beobachtet man ein solches Tier, so kann man sich des schwer in Worten ausdrückbaren Eindrucks nicht erwehren, daß das Tier sich beim Vorwärtskriechen des Hinterendes als Stützpunkt bedient, von dem aus der Körper weitergeschoben wird, und erst dann löst sich das an die Unterlage fixierte Hinterende los und wird nachgezogen. Die Funktion, die die Klebkörner bei dieser Bewegungsart ausüben, wäre dann die gleiche wie die der Nägel an den Schuhen des Bergsteigers. Ich glaube aber, daß es nicht nur dieser Reibungswiderstand ist, in dem die Bedeutung der Körner liegt, sondern daß diese ihre Funktion noch durch eine gewisse Klebrigkeit gesteigert wird. Am Hinterende lebhaft kriechender Tiere sieht man die Körner, die am meisten hinten liegen, sich zu kleinen Tröpfchen umbilden (Fig. E), die beim Weiterkriechen oft spitz ausgezogen werden. Für diese ihre Natur spricht auch ihr Verhalten bei der Encystierung, wobei sie an der Bildung der Cystenhülle in charakteristischer Weise teilnehmen. Das nähere



Fig. E.

soll aber erst bei Schilderung dieses Vorganges dargestellt werden, um die Beschreibung nicht aus dem Zusammenhang zu reißen. Besonders schön tritt ihre Klebrigkeit bei gewissen Phasen der Nahrungsaufnahme hervor, weshalb wir uns jetzt diesem Vorgang zuwenden.

Mastigella vitrea ist geradezu ungeheuer gefräßig. Neben Diato-

meen und kleinen grünen Algen bildet ihre Hauptnahrung lange Algenfäden verschiedener Arten, von denen sie schier unglaubliche Mengen bewältigen kann, aber auch Fäden von im Verhältnis zu ihrem Körper riesiger Länge. Die Art, wie diese langen Fäden aufgenommen werden, ist für unsere Form direkt charakteristisch: zu Zeiten, in denen in der Kultur große Mengen jener Nahrung vorhanden, brauchte man bloß nach den Algenfäden zu schauen, um dann der durchsichtigen, sie überziehenden Mastigellen gewahr zu werden. Das erste Ergreifen des Fadens ist in Fig. F dar-



Fig. F.

gestellt: in diesem Falle wurde der Faden an einem Ende ergriffen, öfters aber sah ich, daß er in der Mitte gefaßt wurde. An dem der Bente zugekehrten Hinterende entstanden zunächst lange Pseudopodien, die sich dem Faden anlegten. Ein besonders langes bog sich in diesem Falle über den Faden hinweg und hielt ihn fest wie zwischen den Schenkeln einer Zange. Und nun fließt das Plasma langsam um den Faden herum, so daß seine Spitze im Innern des Tieres liegt. Ist, wie meistens, der Faden in der Mitte ergriffen worden, so steckt er jetzt peripher in dem Tiere drin, so daß etwa das gleiche Bild entsteht, wie es eine Epithelmuskelzelle einer Hydra zeigt, wobei der Algenfaden dem contractilen Faden, die Amöbe

der Epithelzelle zu vergleichen wäre. Und nun schiebt sich das Protoplasma langsam über den Faden nach beiden Seiten hinweg (Fig. G). Es beteiligt sich daran zunächst nur das Ectoplasma, das nun keine Pseudopodien aussendet. Das Hinwegschieben über den Faden erfolgt vollständig gleichmäßig wie die Ausstülpung eines Handschuhfingers, so daß der peripherste Teil immer manschettenartig abschließt (Fig. G₁). Der Körper der Amöbe wird dabei immer mehr verbraucht und überzieht, wenn es sich um lange Fäden handelt, schließlich nur als eine ganz dünne Hülle den Faden, die nur in

der Mitte spindelförmig angeschwollen ist (Fig. H). Es kann dies so weit gehen, daß man den durchsichtigen Plasmaüberzug überhaupt

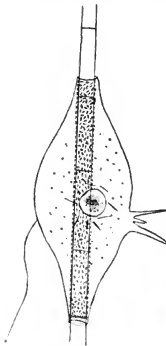


Fig. G.



Fig. G1.

nur an den Enden des Fadens, wo er stets etwas vorquillt, sehen kann. Sehr merkwürdig ist, daß während dieses Vorganges oft die Klebkörner im Bereich der Hauptplasmamasse in der spindelförmigen Anschwellung sich dicht um den Algenfaden gruppieren, ihn vollständig einhüllend (G). Wir können dies nur so erklären, daß sie die Amöbe in diesem Falle an dem Faden befestigen. Dafür spricht, daß er bis zur völligen Aufnahme des Fadens, wie die gefärbten Präparate deutlich zeigen, durch eine feine Hautschicht noch vom Plasma getrennt ist, so daß man sich den ganzen Vorgang so vorstellen muß, daß das Tier für den Faden einen Kanal bildet, der ihn umschließt und dessen Wand



Fig. H.

erst aufgelöst wird, wenn die Beute ganz umflossen ist. Besonders deutlich tritt die Richtigkeit dieser Auffassung auch an der manschettenartigen Vorfußstelle zutage, wie die stärker vergrößerte Fig. G₁ zeigt.

Hat die *Mastigella* kleine oder mittlere Fäden aufgenommen, so verdaut sie sie in loco und hat dann für lange Zeit eine Form, wie sie die Fig. 54, 60–62 zeigen. Erst wenn der Faden ausgedaut ist, bricht er, wohl schon durch die Bewegungen des Tieres, auseinander und die leeren Zellmembranen liegen in einer oder mehreren Vacuolen beisammen, wie auch schon oben besprochen wurde, bis sie ausgestoßen werden. Dies geschieht einfach, indem die Hautschicht über einer solchen Vacuole dünner wird und schließlich einreißt. Hat das Tier aber sehr große Fäden umflossen, so müssen diese, um verdaut zu werden, erst richtig dem Körper einverleibt werden, und dies geschieht in einer überaus merkwürdigen Weise. Schon bald nachdem der Faden ganz umflossen ist, werden wieder auf der Körperoberfläche Pseudopodien gebildet, und zwar zuerst an den Enden des Fadens und dann allmählich überall. Nunmehr sammeln sich alle Klebkörnchen in einer Zone in der Mitte der Länge an der Körperoberfläche an, hier eine Art Gürtel bildend (Fig. J). Und nun beginnt das Plasma auf einer Seite kleine konische Pseudopodienhöcker zu bilden, auf deren Spitze je ein Klebkorn liegt (Fig. J₁). Und indem das Plasma, sichtlich mit Hilfe der Klebkörnchen sich anheftend, auf dieser Seite vorwärts wandert, während die Körner der Gegenseite wohl das Punctum fixum herstellen, wird der Faden allmählich geknickt. In Fig. J ist er bereits in der ersten Knickung dargestellt; wenn der Prozeß weiter fortschreitet, bildet der Faden ein winkliges Gerüst, zwischen dem der Körper jetzt membranartig ausgespannt ist (Fig. J₂). Schließlich ist der Faden vollständig bewältigt und einverleibt und kann verdaut werden. Der ganze Vorgang nimmt etwa 1 Stunde in Anspruch. Die Berechtigung der Bezeichnung Klebkörner erhellt wohl aus dieser Schilderung.

Nachdem wir so die Bestandteile des Protoplasmas unseres Tieres kennen gelernt haben, können wir uns der Betrachtung der Geißel zuwenden. Das was bei ihrem Studium zunächst in die Augen fällt, ist, daß sie uns in zwei ganz verschiedenen Formen vor Augen tritt, wie Fig. 2 u. 3 zeigt. Im einen Fall erscheint sie als ein dünner Faden von Körperlänge oder darüber, im anderen als eine ziemlich kurze, starre Borste. In ersterem Zustand finden wir sie hauptsächlich bei Tieren im Ruhezustand (Fig. 2) und bei fressenden Tieren

(Fig. J), in letzterem teils bei ruhenden und stets bei wandernden Tieren. Im ausgestreckten Zustand sehen wir die Geißel an irgend einer Stelle aus dem Ectoplasma entspringen. An ihrem Ursprung liegt stets ein stark lichtbrechendes Körnchen. Diese Stelle nimmt keine bestimmte Lage ein, sondern wird durch die Bewegungen des

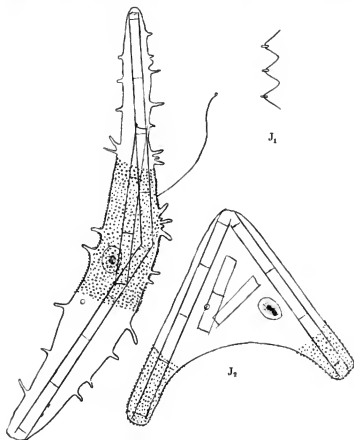


Fig. J.

Ectoplasmas bald hierhin bald dorthin verschoben, bald auf einen nicht markierten Punkt der Oberfläche, bald auf die Spitze eines Pseudopodiums. Der Geißelfaden selbst hängt in diesem Zustand schlaff in das Wasser und führt oft lange Zeit keine Bewegung aus,

abgesehen vom passiven Flottieren. Nur hier und da führt er einen plötzlichen aber recht matten peitschenartigen Schlag aus, um dann wieder still zu liegen. Charakteristisch ist, daß in diesem Zustand das äußerste Ende der Geißel stets ösenförmig umgebogen oder zu einem plasmatischen Klümpchen verdickt ist, wie die Fig. 33 zeigt, die die Geißelspitze in 3 verschiedenen Typen darstellt. Bei fressenden Tieren, die lang ausgezogen einen Algenfaden nmschließen, hängt die Geißel stets in diesem Zustand irgendwo seitlich an der Körperoberfläche und führt überhaupt keine Bewegung aus (Fig. J). Von einer Funktion der Geißel kann in diesem Zustand wohl keine Rede sein.

Anders wenn sie die borstenartige Form zeigt, ein Zustand, in dem sie außer der Kürze wesentlich dicker erscheint. In dieser Form liegt sie nie ruhig, sondern befindet sich stets in aktiver oder passiver Bewegung. Die erste besteht entweder in einem ruhigen Hin- und Herpendeln mit einer Amplitude von 180° , wobei das ganze Organ borstenartig starr bleibt. Dazwischen wird einmal wieder die Stellung zum Körper durch einen schnellen Schlag um 180° gewechselt. Der Schlag ist dann so, wie wenn man eine gespannte Gerte schnicken läßt. Hier und da werden aber auch ein paar schnelle peitschenartige Schläge ausgeführt. Die passive Bewegung wird durch die ständige Verschiebung des Ectoplasmas bedingt, die die Geißel immer auf der Wanderung erscheinen läßt. Beobachtet man ein solches Tier längere Zeit, so liegt die Geißel bald am Rand

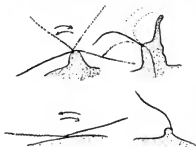


Fig. K.

in verschiedenen Lagen, bald rückt sie auf die Oberfläche hinauf und wandert wieder zu einer anderen Stelle des Randes hinüber. In Fig. K sind vier Stellungen wiedergegeben, die eine solche Geißel im Laufe von 5 Minuten einnahm. Zuerst lag sie auf der Spitze eines konischen Pseudopodiums und pendelte langsam hin und her (1); dann wurde dieses Pseudopodium

weiter vorgewölbt und auf seinem Gipfel bildete sich ein fingerförmiger Lappen. Die Geißel blieb dabei seitlich liegen (2) und führte hier einige Peitschenschläge aus. Dann wurde das Pseudopodium ganz eingezogen und die Geißel saß auf einem flachen Ectoplasmasaum (3), auf dem sie dann mit plötzlichem Ruck zwischen

der gezeichneten Stellung und einer um 180° gedrehten wechselte. Dann geriet sie wieder auf ein kurzes Pseudopodium (4) und wanderte mit diesem auf die Oberseite hinauf, wo sie sich der Untersuchung entzog.

Bei einem auf der Wanderung befindlichen Tier sitzt die kurze Geißel dagegen stets auf der vordersten Spitze des vorankriechenden Ectoplasmazapfens. Sie wird dabei meist starr in die Bewegungsrichtung gestreckt und bei schnell wandernden Tieren überhaupt nicht bewegt. Ist die Wanderung aber verlangsamt, so pendelt sie auch hier hin und her und wird von vorfließendem Ectoplasma bald mehr nach rechts, bald mehr nach links geschoben. Will das Tier seine Bewegungsrichtung ändern, so wölbt sich auf der entgegengesetzten Seite eine Plasmamasse vor, die die Geißel in die neue Bewegungsrichtung verlagert, der dann das ganze Tier nachströmt. Die gegebene Schilderung, wie der Gesamteindruck, den man bei der Beobachtung erhält, zeigen klar, daß die Geißel der *Mastigella* für die Bewegung des Tieres überhaupt keine Rolle spielt. Ihr ständiges Hin- und Hertasten legt den Gedanken nahe, daß es sich um ein Tastorgan handelt, eine Ansicht, die ja auch schon früher für andere Mastigamöben aufgestellt worden ist.

Es fragt sich nun, ob wir imstande sind, diese verschiedenartigen Funktionszustände miteinander in Zusammenhang zu bringen. Das Studium gefärbten Materials ermöglicht uns dies in der Tat. Schon am lebenden Tier sieht man in günstigen Fällen, d. h. wenn die Geißel auf einem breiten und dünnen Pseudopodium sitzt, am besten bei Tieren auf der Wanderschaft, von dem lichtbrechenden Körnchen aus, das die Geißelbasis bezeichnet, eine feine Fortsetzung der Geißel in das Innere des Protoplasmas ziehen. In Fig. 3 ist dies zu erkennen, ebenso in Fig. K₂. Bei den geringen Lichtbrechungs-differenzen zwischen dieser Bildung und dem Protoplasma ist sie im Leben nicht sehr tief zu verfolgen und von einer feineren Struktur gar nichts zu erkennen. Untersuchen wir nun aber gefärbte Präparate am besten von wandernden Tieren, die ja wegen ihres gestreckten hyalinen Vorderendes besonders günstig sind, so sehen wir von der Geißelbasis aus einen scharf gezeichneten Strang meist leicht wellig gebogen das konische ectoplasmatische Vorderende durchsetzen und im Entoplasma plötzlich enden. Die relative Größe dieser Bildung ist aus Textfigur L zu entnehmen. Sie zeigt auch, daß es sich nicht um einen einfachen Faden handelt, sondern daß der Bildung eine kompliziertere Struktur zukommt, die sich an guten Präparaten folgendermaßen aufklärt (Fig. 32). Das an der Geißelbasis liegende Körnchen erweist sich als ein Ring, der eine feine

Röhre abschließt, die im Ectoplasma nach hinten zieht, sich allmählich verjüngt und, wenigstens in dem abgebildeten Falle, in einen kräftigen gebogenen Faden ausläuft, der scharf abgeschnitten an der



Fig. L.

vorderen Grenze des Entoplasma endet. Die Röhre selbst aber wird durchsetzt von einem äußerst zarten, in Windungen gelegten Faden, der den abschließenden Ring durchsetzend in die Geißel übergeht. Hinten geht der Faden in den gemeinsamen Strang über. Daß er sich hier aber bis zum Ende des ganzen Gebildes fortsetzt, erkennt man an Präparaten, in denen die Röhre vorn kollabiert, also fadenförmig ist, hinten dagegen offen ist und so den „Achsenfaden“ zeigt, wie es in Fig. L der Fall ist. Man erkennt weiterhin deutlich, daß der Achsenfaden viel dünner ist als die Geißel, wenn es sich auch wohl kaum in Zahlen wird ausdrücken lassen. Was das Hinterende des ganzen Apparates betrifft, so glaubte ich bisweilen eine Endigung an irgend einem geformten Körper zu sehen. Es erwies sich aber immer als eine Täuschung, hervorgerufen durch eine besonders deutlich begrenzte Vacuole, wie es in Fig. 31 der Fall ist. In Wirklichkeit endet der Apparat stets unvermittelt an einem Entoplasmazapfen. Die

Elastizität, die der ganzen Einrichtung zukommt, erhellt sehr schön aus Präparaten, in denen das Tier gerade in dem Moment abgetötet wurde, in dem es im Begriff stand, seine Richtung



Fig. M.

zu ändern: dann erscheint die Geißelwurzel in elegantem Bogen in die neue Richtung gekrümmt (Fig. M). Nach dieser Schilderung brauche ich wohl gar nicht weiter zu betonen, daß die lange schlaife Form der Geißel durch Ausstoßung dieses Wurzelapparates aus der borstenartigen Form hervorgeht. Die Bedeutung dieser Strukturen

für das Problem der Geißelbewegung und die mutmaßliche Funktion dieses Apparates soll dann später im Zusammenhang erörtert werden.

Es erübrigt nunmehr nur noch einen Blick auf den Bau des Kernes zu werfen. Dieser ist ein kugeliges Bläschen von 10–15 μ Durchmesser, das im ruhenden Tier ungefähr in der Mitte liegt, bei

der Wanderung sich oft weit hinten findet. Seine ziemlich variable feinere Struktur ist in genau der gleichen Weise im lebenden wie im gefärbten Tier zu sehen. Er wird von einer deutlichen Kernmembran begrenzt, die ziemlich elastisch sein muß. Denn beim fressenden Tier beobachtet man oft, daß der Kern durch die übergroße Menge der Nahrung oder durch die sehr lange Ausziehung des Tieres gepreßt wird und dann ganz abgeflacht oder napfförmig wie ein Säugetiererythrocyt erscheinen kann. Im Innern des Kerns bemerkt man gewöhnlich eine kugelige Masse, die aus dicht aneinandergereihten feinen Körnchen besteht (Fig. 37, 38), die sich bei Färbung als chromatisch erweisen. In welcherlei Grundlage sie eingebettet sind, läßt sich für gewöhnlich nicht erkennen, erst wenn der Kern sich zur Teilung anschickt, wird das die Grundlage bildende feine Wabenwerk deutlich. Zwischen dieser aus chromatischen Körnchen bestehenden Kugel und der Kernmembran ist ein heller Raum vorhanden, in dem sich meist einige wenige chromatische Körnchen finden. Im Innern jener Kugel findet man gewöhnlich einen großen chromatischen und stark vacuolisierten Körper, ein Caryosom, wie es z. B. Fig. 38 zeigt. Alle diese Bestandteile des Kerns sind nun sehr variabel. Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß es sich dabei um vegetative Veränderungen handelt, wie sie auch von anderen Protozoenkernen bekannt sind. Die Körnerkugel kann kleiner sein oder größer und je nachdem auch die äußere helle Zone bis zu ihrem völligen Verschwinden, die chromatischen Körnchen können größer oder kleiner sein. Besonders variiert das Caryosom, das vollständig zerfallen kann, wie Fig. 45 a—e zeigt. Ich habe solchen Zerfall auch im Leben unter dem Mikroskop verfolgen können; da es mir aber nicht gelang, in die verschiedenen Bilder eine Ordnung und Gesetzmäßigkeit zu bringen, so will ich mich auch nicht weiter mit ihrer Schilderung aufhalten. Die um den Kern häufig vorhandene Körnchenzone wurde bereits oben besprochen.

Es wäre schließlich noch zu erwähnen, daß *Mastigella vitrea* auch eine contractile Vacuole besitzt. Sie schlägt aber ganz außerordentlich langsam, wohl kaum mehr als einmal in der Stunde, ist im übrigen von den zahlreichen Vacuolen im Plasma so wenig verschieden, daß sie nur äußerst selten zur Beobachtung kam. Sie entleerte sich in diesen Fällen in der Nähe des Geißelsprungs.

Mastigella vitrea ist ein Schlammbewohner, der niemals an den Wänden der Kulturgefäße in die Höhe kriecht oder in höhere Wasserschichten steigt. Eine Lichtempfindlichkeit, wie sie anderen Schlammbewohnern zukommt, ist nicht vorhanden.

2. *Mastigina setosa*.

Wie bereits in der historischen Einleitung bemerkt, wurde diese Art vor nicht langer Zeit von K. C. SCHNEIDER entdeckt und abgebildet, aber fälschlich zur *Mastigamoeba aspera* gestellt. Sie unterscheidet sich von der bisher besprochenen Art sofort durch ihre viel geringere Durchsichtigkeit. Meist ist sogar ihr Plasma so mit gegessenem Material vollgestopft, daß im Innern gar nichts zu erkennen ist. In ihrer Größe gleicht sie etwa der vorigen Art, mißt, je nachdem sie ausgestreckt ist, 90—140 μ im Durchmesser. Auch hier trifft man das Tier öfters in einem Ruhezustand, in dem es annähernd kugelig erscheint und eine Unterscheidung von Ecto- und Entoplasma nicht möglich ist. Bald geht es aber in Bewegung über und nimmt dann beim Wandern die in Fig. 1 wiedergegebene Gestalt an. Das Kriechen beginnt damit, daß an einem Pole, der damit zum vorderen wird, plötzlich ein halbkugeliges Höcker hervorbricht. Er besteht aus völlig hyalinem Ectoplasma, daß sich in ähnlicher Weise, wie es für *Mastigella* beschrieben wurde, vom Entoplasma löst. Wir müssen hier nun schon vorwegnehmen, daß der Kern, aus dem die lange Geißel entspringt, stets am Vorderende liegt und zwar an der Grenze von Ecto- und Entoplasma, dicht unter der Körperoberfläche, an der er durch die Geißelwurzel befestigt ist. Die Vorwärtsbewegung kommt nun folgendermaßen zustande. Im Plasma tritt eine oft außerordentlich kräftige Fontänenströmung des Entoplasmas auf, die durch die vielen darin enthaltenen Fremdkörper besonders deutlich wird. Eine kurze Zeit fließt der Strom gleichmäßig nach vorn und an den beiden Seiten wieder zurück. Dann aber schießt er plötzlich ruckweise vor, um sofort wieder ins alte Tempo zurückzukehren. Durch diesen Ruck wird ein hyalines halbkugeliges Pseudopodium seitlich vom bisherigen Vorderende vorgestoßen und zwar geschieht dies bald auf dieser, bald auf jener Seite vom Vorderende (Fig. 1). Als bald strömt aber das wieder gleichmäßig vorfließende Entoplasma nach und reißt mit sich den Kern samt der Geißel an das neue Vorderende, das nun wieder nur einen schmalen Ectoplasmasaum hat, und das Spiel beginnt von neuem. Auf diese Weise kann die Amöbe ruhig vorwärtskriechen, bis sie aus irgend einem Grund veranlaßt wird, ihre Richtung zu ändern. Dies geschieht mit einer geradezu erstaunlichen Geschwindigkeit. Zunächst wird ein ebensolches hyalines Pseudopodium vorgewölbt wie beim Kriechen, aber es flacht sich sofort wieder auf der Seite, nach der die Wendung vor sich gehen soll, ab

und seine Masse tritt an dieser Stelle wieder neu hervor und indem dies so weiter geht, wandert das Pseudopodium wie eine Welle über die Körperoberfläche hin. Der Kern mit seiner Geißel wandert mit der gleichen Geschwindigkeit immer wieder nach und so ist im Augenblick ein neues Vorderende hergestellt, das jetzt eine neue Marschrichtung aufnimmt. In seinen Einzelheiten stimmt der Prozeß sehr gut mit der typischen Pseudopodienbildung überein, die RHUMBLER (1898) so schön von seiner *Amoeba limicola* beschreibt. Ich habe übrigens diese interessante Amöbe in Menge beobachtet und kann die RHUMBLER'sche Darstellung in jeder Beziehung bestätigen. Nicht immer aber wandert das Tier in dieser amöboiden Weise. Plötzlich sieht man es die Pseudopodienbildung einstellen, während die Fontänenströmung zunimmt und es resultiert daraus eine eigenartige rollende Bewegung, die sich durch große Geschwindigkeit und Stetigkeit auszeichnet. Es scheint dabei auch die Geißel eine Rolle zu spielen.

Außer an dem Vorderende wird beim Kriechen auch am Hinterende etwas hyalines Ectoplasma sichtbar. Das Hinterende bildet nämlich beim Kriechen stets eine Anzahl mehr oder minder großer stumpler Lappen. Sie sind in Fig. 1 und 26 zu sehen. Manchmal setzt sich das Hinterende aber auch vom übrigen Körper wie ein Fuß ab und dann erscheinen die Lappen wie Zehen (Textfig. N). Morphologisch stellen sie wohl das gleiche dar, wie die bei *Mastigella* schon erwähnten Härchenbesätze des Hinterendes oder das was FRENZEL als maulbeerartige Anhänge bezeichnete. Physiologisch dienen sie möglicherweise als Stützpunkt bei der Bewegung. Außer den erwähnten Pseudopodienbildungen kommen bisweilen aber selten kleine warzenartige Pseudopodien vor, die aber bald wieder vergehen und für die Ortsbewegung keine Bedeutung haben (Fig. N).

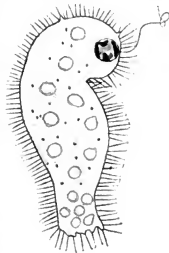


Fig. N.

Was den Bau des Protoplasmas anbetrifft, so ist im Leben hier nicht so viel zu erkennen wegen der Menge von Inhaltskörpern. Das im Leben vollständig hyalin erscheinende Ectoplasma ist im

Präparat sehr feinwabig gebaut und durch einen Alveolarsaum nach außen abgesetzt (Fig. 47 b). Das Entoplasma ist sehr reich von großen und kleinen Vacuolen durchsetzt. Die großen enthalten meist mehr oder weniger verdaute Nahrungskörper, sind aber auch oft leer. Die kleinen finden sich besonders oft dicht gedrängt im Hinterende (Fig. 1), dem sie bei massenhaftem Vorkommen ein charakteristisches Gepräge geben können. Dazu finden sich noch sehr häufig im Entoplasma große Fettkugeln, oft in großer Menge. Es ist dies nicht uninteressant. Da die Nahrung bei dieser Amöbe die gleiche ist wie bei der *Mastigella*, so zeigt uns dies, wie zwei einander so nahestehende Organismen einen grundverschiedenen Stoffwechsel haben können. Denn bei *Mastigella* wurden nie fettartige Substanzen beobachtet. Da der *Mastigina* auch vollständig die Bacteroiden fehlen, so erscheint diese Verschiedenheit noch deutlicher, vorausgesetzt, daß diese Stäbchen Stoffwechselprodukte sind. Im Präparat erscheint das Entoplasma stets sehr fein gekörnt. Es scheint, daß ein Wabenwerk vorliegt, dessen Wände besonders dicht mit feinen Granulis besetzt sind, doch kann ich dies nicht mit aller Bestimmtheit behaupten.

Wir haben schon bei *Mastigella* das Vorhandensein einer Pellicula festgestellt. Noch viel besser entwickelt finden wir sie bei *Mastigina*. Hier fällt sie schon bei schwacher Vergrößerung als eine dichte, stark lichtbrechende und gelblich schimmernde Haut auf. Ihre spezifische Natur ist sehr schön nachzuweisen, wenn man das Tier preßt, wobei sie Falten bildet. Auch bei der Encystierung werden wir sie als gesonderte Membran wiederfinden. Besonders charakterisiert wird diese Schicht aber dadurch, daß sie dicht mit borstenartigen Härchen besetzt ist, denen das Tier seinen Namen verdankt. Sie besitzen eine Länge von 8–14 μ und stehen in regelmäßigen Abständen über die ganze Körperoberfläche verteilt. Sie fehlen weder den Lappen des Hinterendes noch den Pseudopodien. Sie sind nicht alle gleich lang, sondern stets ragen einige, besonders in der Nähe des Geißelursprungs durch besondere Länge hervor. Sie sind vollständig starre, fein zugespitzte Borsten, die meist senkrecht vom Körper abstehen, und nur hier und da ein wenig geneigt sind. Ihre Anordnung ist aus den Figg. 1, 26, 40–44, 76–79 zu erkennen. K. C. SCHNEIDER (1905), der unsere Form zum ersten Mal sah, gibt an, daß er auch Exemplare ohne diesen Borstenbesatz fand. Ich habe an ausgewachsenen Tieren sie aber nie vermißt. Er fand ferner in der Pellicula an der Basis jeder „Cilie“ ein stark lichtbrechendes Korn, das er als Basalkorn bezeichnet,

und glaubt, daß aus ihm die Cilie vorgewachsen ist. Kleinere Stäbchen, die er fand, vergleicht er mit den Rauigkeiten der *Mastigamoeba aspera* und hält sie für Jugendstadien der Borsten. Ich sehe diese Dinge etwas anders. Die Borsten sind in die Pellicula eingepflanzt und zwar endigen sie unter der Pellicula mit einer feinen knöpfchenartigen Anschwellung (Fig. O). Die kurzen dicken Stäbchen, die SCHNEIDER zeichnet, konnte ich nie beobachten. Dagegen konnte ich über die Entwicklung der Borsten folgende Beobachtung machen. Junge Tiere entbehren, wie wir später sehen werden, des Borstenkleides. In dem Stadium aber, in dem sie auftraten, findet man Tiere, deren Oberfläche dicht besetzt ist mit Körnchen, die genau das Aussehen der Klebkörner der *Mastigella* haben (Fig. 30). Aus solchen dürften dann wohl die Borsten auswachsen. Daß die Körner aber nichts mit Basalkörpern zu tun haben, werden wir später auseinandersetzen. Was die Funktion dieser Borsten betrifft, so werden sie wohl durch die so erzeugte raue Oberfläche bei der Bewegung des Tieres nützlich sein. Eine Eigenbewegung haben sie nicht und bei der Nahrungsaufnahme spielen sie auch keine Rolle. Dieser wollen wir jetzt eine kurze Betrachtung widmen.



Fig. O.

Mit *Mastigella* kann sich *Mastigina* nicht an Gefräßigkeit messen, immerhin vermag sie auch relativ große Beute zu bewältigen. Sie nährt sich ebenfalls ausschließlich von pflanzlicher Nahrung, vorzugsweise Diatomeen und kleinen grünen Algen, wagt sich aber auch hier und da an größere Algenfäden heran, wenn auch nicht an solche Riesen wie *Mastigella*. In Fig. 76 ist ein Tier abgebildet mit der größten Beute, die ich beobachtet habe. Das Ergreifen der Nahrung geschieht auch hier mit dem Hinterende — *Mastigella* ergriß sie ja auch mit dem der Geißel entgegengesetzten Pole —, das die Beute umfließt. Ich habe dann öfters beobachtet, daß das Tier weiterkroch oder auch schnell davonrollte, während im Hinterende ein so langer Nahrungskörper stak, daß er wie der berühmte Balken der Schildbürger nachgeschleppt wurde. Erst allmählich wurde dann durch die Strömung des Plasmas der betreffende Körper in die Bewegungsrichtung gebracht und wieder ein normales Hintereude gebildet.

Von besonderem Interesse ist die Geißel der *Mastigina*, die gemeinsam mit dem Kern besprochen werden muß. Sie ist im Gegensatz zur anderen Art sehr groß und beweglich. Ihre Länge variiert sehr. Ich fand sie allerdings niemals kürzer als von etwa $1\frac{1}{2}$ facher

Körperlänge, aber auch zwei- und dreifache Körperlänge kam vor, also Geißeln von fast $\frac{1}{2}$ mm Länge. Ihre Bewegungen sind sehr verschiedenartige. Bewegt sich das Tier in einer Richtung, so wird sie gerade und starr vorgestreckt und nur das vorderste Ende macht schraubenartige Bewegungen. Eine solche Bewegungsart wurde auch schon von anderen Mastigamöben geschildert und das so dargestellt, als ob die Geißel sich dabei wie eine Schiffsschraube ins Wasser bohre. Ich glaube nicht, daß bei *Mastigina* von einer solchen Funktion die Rede sein kann, da die Vorwärtsbewegung durch die Plasmaströmung bewirkt wird. Es scheint mir nmr, daß die erwähnte eigenartige Stetigkeit der Bewegung durch die wie ein langer Schiffsschnabel vorgestreckte Geißel bewirkt wird. In der Hauptsache dürften die Bewegungen des Vorderendes tastende sein — auch für andere Mastigamöben wird eine Tastfunktion der Geißel angenommen —, wie man auch sehr hübsch beobachten kann, wie das Tier sofort seine Kriechrichtung ändert, wenn die Geißelspitze an eine Luftblase oder dergleichen anstößt. Bisweilen führt auch die ganze Geißel einige wenige Bewegungen aus, die entweder in ein paar kurzen Schlägen bestehen, die wellenförmig über die Geißel ablaufen oder in einem Zurückbiegen und nachfolgendem fahnenartigen Entrollen.

Es wurde bereits erwähnt, daß, wie bei vielen Mastigamöben, die Geißel der *Mastigina* aus dem Kern entspringt. Wie Fig. 1 zeigt, oder noch besser Fig. 46 a, b und 47 a ist dies sehr schön im Leben zu sehen. Die Geißel durchbohrt die Pellicula und tritt mit einem knrzen Wurzelstück zum Vorderende des Kerns. Ob dieses Wurzelstück eine Fortsetzung der ganzen Geißel oder vielleicht nur eines Teiles ist, läßt sich bei der Zartheit der ganzen Bildung nicht sagen. Der Kern ist ein kugeliges Bläschen, das an der Stelle der Geißelinsertion einen feinen schornsteinartigen Ansatz hat, den man im Leben bei genauer Profilstellung des ganzen sehr schön sehen kann (Fig. 47 a). Der Schornstein ist abgeschlossen durch eine Endplatte, die sich im Präparat etwas stärker färbt (Fig. 47 b) und dann leicht als vom Kern unabhängige Scheibe fälschlicherweise erscheinen kann, ein Eindruck, der in dem Fig. 41 zugrunde liegenden Präparat vorgetäuscht wurde. In der Mitte dieser Platte befestigt sich die Geißelwurzel und zeigt kurz vorher eine feine punktartige Anschwellung, die ebenfalls im Leben zu erkennen ist, eine Art Basalkorn (Fig. 47).

Es wurde schon oben gelegentlich der Pseudopodienbildung beschrieben, wie der Kern mit der Geißel stets vom nachströmenden Entoplasma wieder an das neue Vorderende getrieben wird. Beob-

achtet man dieses Spiel eine Zeitlang, so kommt man zur Überzeugung, daß die Geißel in der Pellicula in irgend einer Weise befestigt sein muß. Denn bei dieser Wanderung der Geißel bleibt sie stets der gleichen Stelle der Pellicula eingepflanzt, wie man an der Mitwanderung der benachbarten Borsten erkennen kann, während der Kern durch die Geißelwurzel am gleichen Punkt aufgehängt erscheint. Er wird durch die Strömung oft an diesem Faden hin und hergerissen, kann dabei völlig deformiert werden, wie Fig. 46a und b vom gleichen Kern zeigen, ohne seine Lage anzugeben. Es folgt daraus auch, daß wenigstens die Geißelwurzel eine gewisse Festigkeit haben muß.

Damit ist aber die Geißelstruktur noch nicht erschöpft. Im gefärbten Präparat sieht man stets von dem in der Geißelwurzel liegenden Knöpfchen einen feinen gefärbten Faden seitlich abgehen (Fig. 47b *wu*), einen Wurzelfaden. An günstigen Präparaten kann man ihn, wie in Fig. 43 *wu*, weit in das Plasma hinein verfolgen, wo er frei endigt, nachdem er sich manchmal dichotomisch geteilt hat. Bisweilen findet man aber statt des einen Fadens auch mehrere bis zu vier. Besonders schön sind sie in Fig. 42 *wu* zu erkennen (es sind nur die drei nach oben liegenden gezeichnet), die auch zeigt, daß darin stets ein Faden besonders lang erscheint. Über die Funktion dieser Bildungen kann man zunächst nur Hypothesen anstellen. Bei der Wahrscheinlichkeit, daß die Geißel ein Tastorgan darstellt, könnte man an reizleitende Strukturen denken? Vielleicht liegt die gleiche Bildung vor, die PROWAZEK (1903) als Rhizoplast bezeichnete, womit allerdings auch nicht viel gewonnen ist. Es sei schließlich noch hervorgehoben, daß es mir gelang auch die Regenerationsfähigkeit der Geißel in einem Zeitraume von 14 Stunden festzustellen. Es ist dies meines Wissens das erste Mal, daß dies beobachtet wurde. Ich will nicht mehr darüber mitteilen, weil besondere Untersuchungen in dieser Richtung in Gang sind.

Es wären nunmehr nur noch ein paar Worte über den Ban des Kernes zu sagen. Er ist ebenfalls von einer deutlichen Kernmembran umgeben. Sein Chromatin ist wenigstens im ruhenden Kern stets peripher dicht unter der Kernmembran angordnet und zwar entweder in Form kleiner Scheibchen (Fig. 46, 47) oder in Form chromatischer Stränge und Bänder (Fig. 76, 77). Bisweilen findet man auch zwei gegenüberliegende Schollen durch einen feinen, den Kernraum durchsetzenden Faden miteinander verbunden (Fig. 77). Damit ist aber die Schilderung der Kernsubstanzen nicht erledigt. Denn außer dem Kern gibt es noch im Plasma geformtes Chromatin, -

das wir nach seinem späteren Schicksal als Sporetien oder propagatorische Chromidien bezeichnen müssen. Sie sind in ihrer Verteilung im Plasma sehr schön in Fig. 76 zu sehen. Näher soll auf sie aber erst bei Besprechung der Fortpflanzung eingegangen werden.

Auch *Mastigina setosa* ist ein Schlammbewohner. Im Gegensatz zu *Mastigella* scheint sie ziemlich lichtempfindlich zu sein. Bei Beobachtung in hellem Licht ist sie stets bestrebt, aus dem Gesichtsfeld zu kommen und ist Schlamm in der Nähe, so kriecht sie bald in ihn hinein und entzieht sich so der Beobachtung.

3. Bemerkungen über Klebkörner und Geißel.

Es seien an dieser Stelle einige Bemerkungen über die Klebkörner und Geißel eingeschaltet. Die ersteren scheinen eine für die größeren Mastigamöben geradezu charakteristische Organisations-eigentümlichkeit zu sein. Schon die erste näher bekannt gewordene Form, die *M. aspera*, erhielt von ähnlichen Gebilden ihren Namen. SCHULZE verglich sie äußerlich dem *Bacterium termo*, bildete sich über ihre Bedeutung aber keine definitive Ansicht. Auch FRENZEL läßt die Frage offen, neigt aber dazu, sie nicht für Bakterien zu halten. Dafür könnte sprechen, daß bei LEIDY's *Dinamoeba mirabilis* auch Exemplare beobachtet wurden, die in der feuchten Kammer ihre Stäbchen verloren. BÜTSCHLI neigt hingegen dazu, die Stäbchen für Bakterien zu halten, da z. B. manche Choanoflagellaten an ihrer Oberfläche dicht mit Bakterien besetzt sein können, was auch von PLENKE (1899) für Myxomycetenschwärmer angegeben wird. K. C. SCHNEIDER (1905) bezeichnet die Borsten seiner Mastigamöbe als starre Cilien und glaubt die Rauigkeiten der *Mastigamoeba aspera* als junge Borsten ansehen zu müssen. Jedenfalls hält er diese Bildungen nicht für Bakterien, wie daraus hervorgeht, daß er annimmt, daß sie aus Basalkörpern hervorgehen. Durch meine oben geschilderten Beobachtungen an *Mastigella* ist wohl mit Sicherheit erwiesen, daß die von mir als Klebkörner bezeichneten Gebilde keine Bakterien sind, sondern der Amöbe angehören. Ihre verschiedenartige Verwendung bei der Bewegung und der Bewältigung der Beute lassen wohl auch an der in der Bezeichnung angedrückten Funktion keinen Zweifel.¹⁾ Ebenso wenig kann wohl bezweifelt

¹⁾ Ich habe übrigens gelegentlich bemerkt, daß sich ein Klebkorn zu einem feinen Faden ausziehen kann und bei Schilderung der Encystierung werden wir die gleiche Fähigkeit wiederfinden.

werden, daß die ähnlichen Bildungen der *Mastigamoeba aspera* genau das gleiche darstellen. In diesen Fällen handelt es sich aber nicht um eine Struktur der Körperoberfläche, sondern um dentoplasmatische Bildungen, die nach Bedürfnis verwandelt werden. Ich glaube aber auch annehmen zu dürfen, daß die haar- oder borstenartigen Bildungen der *Mastigamoeba schulzei* (FRENZEL), *Dinamoeba mirabilis* (LEIDY) und *Mastigina setosa* nichts anderes darstellen, als solche ausgewachsenen Klebkörner. Der Hauptunterschied wäre darin gegeben, daß in diesen Fällen die Körner konstant vorkommen und in Form der Borsten zu einer ständigen Organisationseigentümlichkeit der betreffenden Tiere geworden sind. Für die Homologisierung spricht auch, daß ich ja die Entstehung der Borsten aus klebkörnerartigen Teilen bei jungen Tieren feststellen konnte. K. C. SCHNEIDER nimmt zwar an, daß auch bei *Mastigina* die Borsten gelegentlich fehlen können oder die Form der Stäbchen der *M. aspera* haben können, weil er einmal ein Exemplar fand, dem die Borsten fehlten, von der Geißel nur ein Stumpf vorhanden war, das sich aber durch den Kern als das gleiche Tier erwies. Ich weiß nicht, was er da vor sich hatte, vermute nur, daß es ein Macrogametocyt im Beginn der Encystierung war. Ich habe bei den zahllosen Tieren, die ich lebend und tot untersuchte, niemals die Borsten vermißt und ebenso wenig die Geißel, außer wenn sie abgerissen war, was beim Herausfangen passiert. Auch die quergestreifte Hautschicht, die FRENZEL von seiner *Mastigina chlamys* beschreibt, möchte ich als eine Täuschung, bedingt durch dicht und regelmäßig gestellte solche Stäbchen, auffassen.

Die Frage nach einer Klebrigkeit der Oberfläche der Rhizopoden ist schon oft diskutiert worden. Besonders eingehend hat es RHUMBLER (1898) getan. Ihm gelang es durch sinnreiche Versuche das Vorhandensein einer klebrigen Substanz bei verschiedenen beschalten und nackten Rhizopoden nachzuweisen. Er kommt zu dem Schluß, daß jeder Oberflächenbezirk der Amöben unter geeigneten Bedingungen den klebrigen Stoff abgeben kann und faßt seine Beobachtungen und Überlegungen in den Schluß zusammen: „Auf alle Fälle läßt sich dem eben Gesagten zufolge verstehen, daß durch die passive Beihilfe der zähflüssigen Substanz das Fortrücken der Amöbe auf der Unterlage, das ohne diese Substanz wegen des geringen Gewichts (Reibung) nicht erfolgen könnte, eine rein physikalische Ermöglichung findet“. Auch HOFER (1889) konnte eine solche Klebrigkeit schon nachweisen und eine Beziehung zum Kern statuieren, indem sie in kernlosen Fragmenten anhielt. Es ist dies

vielleicht interessant, im Hinblick auf die oben beschriebenen Tatsachen, die eine nähere Beziehung zwischen Kern und Klebkörnern vermuten lassen. SCHNEIDER (1905) hält ebenso wie JENSEN (1902) eine solche Klebrigkeit für überflüssig und erklärt die betreffenden Erscheinungen durch Verdichtung auf einen Reiz hin. Mir scheint aber insbesondere nach HOFER's (1889), VERWORN's (1892), RHUMBLER's (1898) Beobachtungen eine wirkliche Klebrigkeit durch Ausscheidung einer besonderen Substanz weit verbreitet zu sein und ihre bis jetzt bekannte höchste Ausbildung bei den Mastigamöben zu erreichen, wo ihr morphologisch geformtes Substrat nachzuweisen ist.

Ich möchte bei dieser Gelegenheit einige Beobachtungen einschalten, die wenn auch nicht direkt in diese Arbeit gehörig, doch für die vorliegende Frage von Interesse sein dürften. Diese Beobachtungen beziehen sich auf einen kleinen flagellatenartigen Organismus, den man ebenso

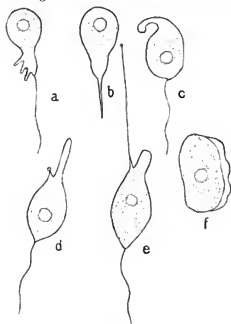


Fig. P.

Cercomonas-artige Organismus zeigte nun folgende merkwürdige Bewegungsart (Fig. P). Das Protoplasma des Tieres ist feinkörnig und geht am Vorderende in einen hyalinen Zapfen über, auf dessen Spitze die lebhaft hin und herzügelnde Geißel sitzt. An

den Mastigamöben wie zu den Monadineu stellen könnte. Ich vermute, daß er irgendwie mit *Cercomonas* zusammenhängt, ohne es aber bestimmt behaupten zu können. RHUMBLER hatte in der erwähnten Arbeit angenommen, „daß die auf der Unterseite der Amöbe abgeschiedene zähflüssige Masse hinter der Amöbe zu Fäden zusammengezogen würde (vgl. eventuell die schleimigen Fäden in der Diffugienkultur) und daß diese Fäden dann periodisch vom Hinterende von selber abrisßen“. Der von mir beobachtete

diesem Konus können gelegentlich auch fingerförmige Pseudopodien ausgestreckt werden (a). Gelegentlich kommt es vor, daß die Geißel sich verkürzt und direkt in ein noch hin und herschwingendes Pseudopodium sich verwandelt. Dies kann sich dann auf den Rand des Körpers verbreitern und dieser schwingt dann wie eine undulierende Membran hin und her und bietet das Tier in diesem Zustand ein *Trichomonas*-artiges Bild (f). Beginnt nun das Tier sich vorwärts zu bewegen, so streckt es zunächst die Geißel gerade nach vorn und bildet hinten ein hyalines fußartiges Pseudopodium. Mit diesem muß es sich an der Unterlage festheften, denn das ganze Tier schwingt dann auf diesem Fuß suchend hin und her, wie auf einem Stiel (c), plötzlich streckt es sich nach einer Richtung, der Fuß wird lang ausgedehnt und gleichzeitig bildet das Protoplasma neben der Basis des Fußes ein feines Spitzchen, auf dem ein deutliches Tröpfchen einer glashellen Flüssigkeit ausgeschieden wird (d); und nun läßt der Fuß los, schnellt wie ein losgelassener Gummi zum Körper zurück und gleichzeitig zieht sich das Tröpfchen zu einem feinen Faden aus, an dem das Tier befestigt ist und hin und herpendelt (e). Und jetzt setzt sich der Fuß wieder fest, der dünne Klebfaden reißt vom Körper los und ist noch ein paar Sekunden lang zu sehen und nun beginnt das Spiel wieder von vorn. Hier liegt also ein Fall vor, wo in exquisiter Weise ein Klebstoff für die Bewegung des Tieres in ganz absonderlicher Weise verwandt wird. RUMBLER neigt der Ansicht zu, daß der Klebstoff nicht ein auf geeignete Berührung erfolgtes Exsudat des Weichkörpers ist, sondern daß er momentan verändertes, lebendes Protoplasma selbst darstellt. Nach den Beobachtungen an *Mastigella* möchte ich glauben, daß auch bei den anderen Rhizopoden der Klebstoff ein wirklich ausgeschiedener Stoff ist.

Was die Beziehungen der Borsten der *Mastigina* usw. sowohl, wie der ihnen homologen Klebkörner zu Cilien und den Härchenanhängen kriechender *Pelomyxa* usw. anbetrifft, so möchte ich solche völlig ablehnen. Die Ähnlichkeit mit Cilien ist bei den Borsten eine ganz äußerliche und die Bezeichnung der verdickten Borstenbasis als Basalkorn ist meiner Ansicht nach falsch. Und auch eine Beziehung zu den Härchen der kriechenden Amöben, wie sie SCHNEIDER annimmt, wenn ich ihn recht verstehe, besteht keinesfalls. Schon F. E. SCHULZE hat diese Ansicht zurückgewiesen und ich habe ja auch oben für *Mastigella* das Auftreten solcher Härchen ohne jede Beziehung zu den Klebkörnern geschildert. Wie diese Härchen zustande kommen, ist ja noch unklar, soviel kann man aber

sagen, daß es sicher protoplasmatische Gebilde sind, wie die Cilien auch, was für die Borsten der Mastigamöben nicht zutrifft. Solche Borsten scheinen übrigens bei Rhizopoden auch sonst in ähnlicher Weise vorzukommen; Beispiele finden sich bei SCHNEIDER (1905 S. 124) zusammengestellt.

Wenn wir jetzt noch kurz versuchen wollen, unsere Erfahrungen über Geißel und Pseudopodien mit der Lehre von der Cilienbewegung in Zusammenhang zu bringen, so kann es natürlich nicht unsere Aufgabe sein, diese Lehre hier ausführlich zu erörtern. Es ist dies auch um so weniger nötig, als in neuester Zeit von verschiedenen Seiten die diesbezüglichen Fragestellungen und Tatsachen mehrmals kritisch gesichtet wurden. So gab PÜTTER (1904) eine zusammenfassende Übersicht der morphologischen und physiologischen Tatsachen unter kritischer Erörterung ihrer Bedeutung, SCHUBERG (1905) erörterte im Anschluß an neue Befunde bei Cilien eingehend das Problem, und GURWITSCH (1904) gab in seinem meiner Ansicht nach gar nicht genug zu rühmenden Buch über die Zelle eine klare und präzise Fragestellung unter Heranziehung aller wichtigen Tatsachen. Für uns hier handelt es sich um Verwertung der beschriebenen Tatsachen für folgende drei Fragen: Ist ein feinerer Bau der Cilien nachzuweisen, der zu ihrer Funktion eine typische Beziehung hat? Läßt sich eine morphologische Beziehung zwischen Cilien und Pseudopodien statuieren? Was bedeuten die Beziehungen von Geißel und Kern?

Die Versuche, einen feineren Bau der Cilie (wenn ich hier unter Cilie im erweiterten Sinne Cilien und Geißeln verstehen darf) aufzufinden, aus dem sich ein Verständnis ihrer Funktion schöpfen läßt, haben zwar nicht zu vielen positiven Befunden, aber zu vielen Theorien geführt. Unter diesen hat sich eine Zeitlang die der contractilen Fibrillen, die im Anschluß an die Erforschung des Spermatozoenbanes entstand, merkwürdigerweise viele Anhänger erworben. Jetzt scheint aber endgültige Einigung erzielt zu sein für eine Auffassung, die sowohl mit den Tatsachen harmoniert, als auch physikalisch die einzige mögliche ist. Nach SCHUBERG wurde es zuerst von LEYDIG (1885) deutlich ausgesprochen, daß man auch am Flimmerhaar unterscheiden müsse zwischen etwas aktiv sich Bewegendem und passiv Bewegtem, zwischen dem halbflüssigen contractilen und dem festen elastischen Element. Eine ähnliche, mehr physiologisch gefaßte Auffassung vertrat VERWORN (1890) gelegentlich seiner Untersuchungen an den Wimperplättchen der Ctenophoren, und ich kann mitteilen, daß ich die Auffassung von einer axialen

oder seitlichen elastischen Differenzierung und einer Hülle contractilen Protoplasmas bereits 1896 von W. KÜHNE gehört habe, der in seiner Vorlesung energisch dies als die einzige Möglichkeit für ein Verständnis der Flimmerbewegung betonte. Auch von morphologischer Seite sprachen sich viele Forscher in dieser Richtung aus, so RAY LANKESTER (1897), BÜTSCHLI (1902), PROWAZEK (1904) und in vollständiger Übereinstimmung in allen wesentlichen Punkten die schon erwähnten PÜTTER, GURWITSCH, SCHUBERG, zu denen noch KOLTZOFF (1903, 1906) kommt, der die Notwendigkeit einer derartigen Vorstellung aus seiner Lehre von den formbestimmenden Bestandteilen des Protoplasmas ableitet. Es besteht also vollständige Übereinstimmung darin, daß für den Mechanismus der Cilienbewegung eine passiv bewegte, feste, elastische Achse und eine protoplasmatische bewegliche Hülle vorhanden sein muß. Die diesbezüglichen Tatsachen sind allerdings entsprechend der Schwierigkeit der Beobachtung sehr spärliche. Es sind einmal die Beobachtungen von PLENKE (1899), der allerdings seine Darstellung eines Achsenfadens mit umgebendem Protoplasma durch den Satz abschwächt: „doch möchte ich mich eines abschließenden Urteils hier noch enthalten“. Sodann vermochte BÜTSCHLI (1902) den Nachweis eines Achsenfadens bei Flagellaten zu erbringen, das gleiche gibt PROWAZEK (1904) für *Trichomastix lacertae* an und KOLTZOFF (1906) für Flimmerzellen von Pteropoden. Für die Cilien der Infusorien konnte endlich SCHUBERG (1906) einen Achsenfaden nachweisen durch Darstellung eines differenzierten Endstückes, wie es schon von LÖFFLER (1889), FISCHER (1894), BÜTSCHLI (1902), PROWAZEK (1904), HAMBURGER (1905) an anderen Objekten aufgezeigt wurde.

Meine oben geschilderten Beobachtungen an *Mastigella vitrea* liefern nun dieser Auffassung, wie ich glaube, eine weitere Stütze. Wenn wir die Geißel der *Mastigella* im kurzen borstenartigen Zustande starrer und dicker fanden als im langen ausgestreckten Zustande, in dem sie schlaff herunterhing, und wenn wir dazu den eigenartigen oben geschilderten Wurzelapparat nehmen, so müssen wir dem Ganzen wohl folgende Deutung unterlegen. Die Geißel besteht aus einem elastischen Achsenfaden, der von einer Protoplasmahülle überzogen ist. Dieser Faden hat eine beträchtliche Länge und wurzelt im Entoplasma. Ist das Entoplasma weit von der Geißelursprungsstelle zurückgezogen, so liegt der Achsenfaden zum größten Teil innerhalb des Protoplasmas, wie es tatsächlich die Beobachtung zeigt (Fig. 32). Da die Geißel aber im höchsten Falle so lang sein kann wie der Achsenfaden, wie ohne weiteres aus

der Dynamik der Flüssigkeiten hervorgeht, wie es besonders klar KOLTZOFF (1906) entwickelte, so haben wir eine kurze Geißel, die deshalb aber ziemlich dick erscheint, weil um den Achsenfaden das Geißelprotoplasma in seiner gegebenen Menge sich anhäuft. Nähert sich das Entoplasma aber dem Geißelursprung, so wird der Achsenfaden ausgestoßen und dementsprechend verlängert sich die ganze Geißel, da das ihn umgebende Protoplasma jenem Faden adhärirt. Ist der ganze Faden ausgestoßen, so hat die Geißel ihre maximale Länge erreicht; sie muß jetzt natürlich dünner erscheinen, weil die gleiche Plasmamenge sich auf viel größeren Raum verteilt. Ihre geringere Contractionsfähigkeit erklärt sich aus dem gleichen Grunde, gleichzeitig ein schönes Beispiel dafür, daß der Sitz der Bewegung in der äußeren Plasmahülle liegt. Die Unfähigkeit zu schnellen energischen Schwingungen im ausgedehnten Zustande erklärt sich aus der Elastizität des Achsenstabes, dessen Eigenschwingungen ja von seiner Länge abhängig sind. Nach dem vorgehenden muß die Scheide, die den Achsenfaden in zurückgezogenem Zustande umgibt, als eine Art von Führung angesehen werden, und das gleiche gilt für das basalkörperartige Korn an der Geißelbasis, das wohl sicher die Form eines Ringes hat. Es ist dann aber nicht nur Führung, sondern auch Widerlager für die elastischen Eigenschwingungen des Achsenstabes. Ich glaube, es möchte sich lohnen, diesen Gedankengang auch auf die Flimmerzellen auszu dehnen, und es sollen auch diesbezügliche Versuche ausgeführt werden.

Was den zweiten Punkt anbelangt, die Beziehung der Geißeln zu Pseudopodien, so ist er ebenfalls schon oft erörtert worden und verweise ich auch in bezug auf diesen Punkt auf GURWITSCH, PÜTTER, SCHUBERG. Diese Forscher haben auch mit Recht hervorgehoben, daß zwischen echten Pseudopodien mit Achsenfaden und Cilien alle erdenklichen Übergänge existieren. Übergänge von Pseudopodien in Geißeln sind ja besonders für die *Amoeba radiosa* oft erwähnt worden (BÜTSCHLI 1878, s. auch CLAPARÈDE u. LACHMANN's *Podostoma*) und dem lassen sich jetzt auch die oben geschilderten Beobachtungen an jener merkwürdigen *Cercomonas* einreihen. Bei den echten Axopodien, wie sie z. B. von *Actinosphaerium* jedermann bekannt sind, ist die elastische Achse des Pseudopods ja leicht nachzuweisen. Anders aber bei den gewöhnlichen fadenförmigen oder lang fingerförmigen Pseudopodien zahlreicher Rhizopoden. Schon die bloße Beobachtung eines solchen Pseudopodiums, wie ich es z. B. von *Diffugia acuminata* und einer großen, nicht näher bestimmbar en Amöbe kenne, bei welchen Organismen die Pseudopodien wie starre Stäbe hin und

her bewegt werden, legt es nahe, daß auch hier eine elastische Achsendifferenzierung vorhanden ist. Schon BÜTSCHLI (1892) hat darauf hingewiesen, daß für die fadenförmigen Pseudopodien eine festere Achse wohl angenommen werden muß, und das physikalische Desiderat einer solchen geht besonders aus KOLTZOFF's Entwicklungen klar hervor (s. auch GURWITSCH). Außer bei den echten Axopodien, also formbeständigen Pseudopodien mit fester Acbse, der Heliozoen (M. SCHULTZE 1863), gewisser Rhizopoden (*Camptonema*, SCHAUDINN 1894) und der Radiolarien (R. HERTWIG 1879), deren Achse übrigens bekanntlich leicht eingeschmolzen werden kann, ist mir keine Angabe bekannt, daß bei dem Vorstoßen gewöhnlicher fadenförmiger Pseudopodien festere Achsenstrukturen nachgewiesen wurden. (Allenfalls ließen sich hier die Angaben von RAY LANKESTER (1897) über *Chlamydomyxa montana* anführen.) Es scheint mir deshalb von besonderer Bedeutung zu sein, daß das Vorhandensein eigener axialer Differenzierungen beweglicher Pseudopodien hier bei *Mastigella* nachgewiesen werden konnte. Merkwürdig ist dabei, daß es das Entoplasma übernimmt, diese Filamente zu liefern. Wir können uns den gesamten Vorgang nur so vorstellen, daß ein fadenförmiger Entoplasmastrom — von einem Gerüstfaden im Sinne der Filarlehre, die SCHNEIDER (1906) kürzlich für die Protozoen zu beleben suchte (ein Weg, auf dem ihm wohl wenige Protozoenforscher folgen werden und meiner Überzeugung nach mit Recht), kann dabei natürlich nicht die Rede sein, weil es solche wenigstens hier nicht gibt — zur Pellicula vorgestreckt wird, erhärtet und, indem neues Material nachströmt, das ebenfalls alsbald erhärtet, die Pellicula vortreibt und so den Anlaß zur Bildung eines Pseudopodiums gibt; dessen Ectoplasma würde nach dieser Auffassung rein passiv nach den bekannten physikalischen Regeln mit vorgeschoben.¹⁾ Die Zurückziehung des Pseudopodiums beruhte dann auf einem centralen Einschmelzen des axialen Entoplasmastabes. Jedenfalls ist durch die mitgeteilten Tatsachen einmal die Kluft zwischen Pseudopodien und Geißel noch weiterhin überbrückt worden, als es schon bisher der Fall war, und anderenteils auch der neuerdings durchdringenden naturgemäßen Lehre vom Geißelbau und -funktion neues Stützmaterial zugeführt. Es sei schließlich zur weiteren Bekräftigung jener Homo-

¹⁾ Es ist bei allen diesen Anseinandersetzungen stillschweigend vorausgesetzt, daß der Aggregatzustand des Protoplasmas flüssig ist. Es gibt wohl keinen Protozoologen oder überhaupt Zoologen, der hieran noch zweifelt. Fanatische Anhänger der unglückseligen FLEMING'schen Doktrinen werden allerdings wohl nie davon überzeugt werden.

logisierung nochmals auf die Endigung des Achsenfadens der Geißel von *Mastigella* am Entoplasma hingewiesen.

Ein dritter Punkt, der noch eine Besprechung erheischte, wäre endlich die Verbindung von Geißel und Kern, die bei *Mastigina* ebenso wie bei anderen Mastigamöben (s. SCHULZE, BÜTSCHLI, FRENZEL, PROWAZEK, SCHNEIDER usw.), bei Myxomycetenschwämmern (PLENGE) und auch bei Geißelzellen der Metazoen (Spongien, MAAS 1890, F. E. SCHULZE 1900 u. a., Amphioxides, GOLDSCHMIDT 1905) sichergestellt wurde. Über ihre physiologische Bedeutung sich Vorstellungen zu machen, ist vorderhand zwecklos, wenn man ja auch daran denken könnte, in diesem Falle im Kern die Energiequelle für die Geißel zu sehen. Eher läßt sich der Frage vom allgemeincellulären morphologischen Standpunkt aus nahetreten, vom Standpunkt der Lehre des Kerndualismus und im Vergleich mit den Spermien der Metazoen. Doch sei dies für eine spätere Gelegenheit aufgespart.

4. Die vegetative Vermehrung der *Mastigella* und *Mastigina*.

Die vegetative Vermehrung unserer beiden Mastigamöben erfolgt durch Zweiteilungen. Leider kann ich diesen Vorgang nur lückenhaft schildern, da es mir bei keiner der beiden Arten gelang, ihn vom Anfang bis zum Ende im Leben zu beobachten. Und auch die Stadien, die ich im gefärbten Material fand, sind so selten, daß ich, außer den häufigen Endstadien, nur über die abgebildeten Fälle verfüge. Es scheint hier der gleiche Fall vorzuliegen, wie bei so vielen anderen Amöben, bei denen es selbst zu Zeiten kolossaler Vermehrung so selten gelingt, Teilungsstadien zu beobachten. Hier bei meinen Mastigamöben gehen die letzten Teilungsstadien sicher, wie ich beobachten konnte, sehr langsam vor sich, die ersten müssen dagegen außerordentlich geschwind ablaufen.

Bei *Mastigella vitrea* beginnt die Teilung mit einer Einziehung aller Pseudopodien und vollständigen Abkugelung des Tieres. Am lebenden Objekt kann man diese Stadien kaum von einer jungen Cyste unterscheiden. Der Unterschied tritt aber sofort zutage, wenn man das Objekt etwas preßt. Liegt eine Cyste vor, so faltet sich die sonst nicht sichtbare Cystenmembran, liert der Beginn der Teilung vor, so werden aus der vom Druck reißenden Pellicula auf der ganzen Oberfläche kleine Plasmotropfen ausgepreßt. Im übrigen kann das Bild ein völlig gleiches sein, wie ein Vergleich der Cyste Fig. 4 mit dem Teilungsbeginn Fig. 34 zeigt. Bei dem sich teilenden Tier fällt aber auf, daß der Kern unverhältnismäßig stark sich

vergrößert hat (vgl. die bei gleicher Vergrößerung gezeichneten Fig. 34 und 45). Dementsprechend erscheint auch die Kernstruktur wesentlich verändert. Die färbbaren Substanzen haben sich alle im Centrum des Kerns konzentriert; in dem in Fig. 34 wiedergegebenen Präparat ist ein großer vacnolisierte, stark chromatischer Körper vorhanden, und jederseits von diesem ein kleinerer. (Im gefärbten Präparat erkennt man sofort, ob eine Cyste oder ein Teilungsbeginn vorliegt, indem erstere bei der Konservierung an der Oberfläche leichte Runzeln bekommen, letztere dagegen die Kugelform sehr schön erhalten.) Der übrige Kernraum nimmt die schon früher erwähnte ungemein regelmäßige Wabenstruktur an, bestehend aus genau konzentrisch gelagerten Wabenreihen oder richtiger Kugelschalen, die im Leben wie im Präparat in gleich schöner Weise sichtbar sind. Wie diese Kernstruktur aus der normalen hervorgeht, konnte nicht beobachtet werden. Analog anderen bekannten Vorgängen scheint es mir am plausibelsten anzunehmen, daß das Wabengerüst in gleicher Weise, aber mit engeren Maschen schon vorher vorhanden war, aber durch die dicht eingelagerten chromatischen Körnchen verdeckt wurde. Erst wenn diese sich im Centrum sammeln und gleichzeitig durch Flüssigkeitsaufnahme die Wabenräume sich vergrößern, wodurch ja der Kern anschwillt, werden sie deutlich sichtbar.

Wie nun dieser Kern in die Teilungsspindel übergeht, konnte ich wie gesagt, nicht beobachten, obwohl ich mehrmals eine Nacht hindurch ein solches Stadium verfolgte. Ich muß mich also mit der Schilderung der beiden einzigen Spindelpräparate, die ich besitze, begnügen. Eine noch junge Spindel zeigt Fig. 35. Sie zeigt eine breite Tonnenform unter völliger Erhaltung des Kernmembran. Das Wabengerüst hat sich in die Länge gestreckt und täuscht so bei schwächerer Vergrößerung Spindel„fasern“ vor, in deren Verlauf feine Körnchen eingelagert sind. Bei sehr starker Vergrößerung erkennt man aber die längsgedehnten Wabenreihen (35a), deren Wände die Fasern darstellen. Das Chromatium bildet eine typische Äquatorialplatte, in der man im Profil dicht nebeneinander gestellte, rechteckige chromatische Stäbchen sieht. Dreht man das Präparat, so daß die Spindel nun vom Pole gesehen wird, so tritt das Bild Fig. 35B auf. Die Äquatorialplatte nimmt nicht den ganzen Raum des Kernes ein, aber doch den größten Teil. Die Chromosome liegen dicht beieinander und sind ungefähr gleich groß. Ich zählte rund 40, doch kommt ja bei einmaliger Zählung dem keine weitere Bedeutung zu.

Das zweite Teilungsstadium ist in Fig. 36 abgebildet. Es zeigt das Stadium der Tochterplatten. Die Spindel ist außerordentlich lang ausgezogen durch das elliptische Tier. Sie wird gebildet von gezogenen, parallelen Faserzügen, deren feinere Struktur nicht zu ermitteln war. Die Pole werden von Faserpyramiden eingenommen, die mit einem centrosomenartigen Punkt endigen. Ich glaube aber nicht, daß irgend ein distinktes Korn vorliegt, sondern neige mehr zur Ansicht, daß es ein durch den Zusammenfluß der Spindelfasern hervorgerufenen Trugbild ist. An der Grenze von Spindel und Polkegel liegt jederseits eine einheitliche bohnenförmige Chromatinmasse mit feinen Vacuolen im Innern, die im ganzen so aussieht wie der Körper, den wir als Caryosom im Kern bezeichnet haben. Außerdem sind aber dem Verlauf der Spindel noch chromatische Stränge eingeordnet, die chromosomenartig aussehen. Ich bedauere ganz besonders, nicht weitere Teilungsstadien haben auffinden zu können, weil dieses Bild in so außerordentlicher Weise an die Spindeln erinnert, die VAHLKAMPF (1904) von *Amoeba limax* abbildet. Auch dort treten zwei differente Chromatinteile in den Spindeln auf und in einer kürzlich erschienenen Arbeit haben POPOFF und ich diese merkwürdige Teilungsart u. a. theoretisch zu verwerten gesucht (GOLDSCHMIDT u. POPOFF (1907)). Da wir nun nach dem gleich zu schildernden Ban des frisch geteilten Kernes annehmen müssen, daß der bohnenförmige Körper tatsächlich nur das Caryosom des Kernes bildet, das flüchtige Chromatin der Spindel aber das übrige Kernchromatin, da weiterhin gezeigt werden wird, daß aus dem extracaryosomalen Kernchromatin bei der Fortpflanzung das Material der Geschlechtskerne entsteht, so ließe sich hier besonders schön die in jener Arbeit entwickelte Auffassung nachweisen, daß in der Teilungsspindel gemischter Protozoenkerne der Kerndualismus zutage tritt. Bei dem Mangel an Zwischenstadien muß leider diese Wahrscheinlichkeitsargumentation genügen.

Das nächste Bild, das ich geben kann — und von hier an sind wieder alle Bilder auch im Leben beobachtet — zeigt den Kern bereits vollständig in zwei geteilt (Fig. 37). Die beiden Kerne liegen noch nahe beieinander und sind durch eine besonders aussehende Plasmamasse miteinander verbunden. Sie zeigt eine merkwürdige Zusammensetzung aus feinen Stäbchen und soll, da über ihre Herkunft und Bedeutung mir nichts bekannt ist, mit dem Namen Archoplasmale bezeichnet werden, ohne daß damit irgend eine an diesen Namen knüpfende Anschauung untergelegt würde. Das Protoplasma dieses Tieres nimmt bereits unregelmäßige Gestalt an und in der Tat sehen

wir solche Tiere nunmehr mit zwei Kernen umherkriechen, ohne daß das Protoplasma irgend eine Veränderung erfährt. Sie sind auch im Leben außer an den zwei Kernen an der Archoplasma-masse zu erkennen und können alle die oben beschriebenen Formen einnehmen. Ein im Beginn der Wanderung begriffenes solches Tier ist in Fig. 38 abgebildet; das Archoplasma ist in diesem Fall nur einem Kern angelagert. Auch das Fressen großer Algenfäden geht bei diesen Formen in der gleichen Weise vor sich und bei einem solchen Tier konnte ich auch einmal die Teilung des Körpers beobachten, die also erst lange nach der Kernteilung erfolgt. Hier bildete das Tier um die Mitte des Algenfadens eine große spindelförmige Anschwellung, an deren Polen je ein Kern lag und nun schnitt in der Mitte die Teilungsfurche genau senkrecht durch und jetzt lagen die beiden Tochtertiere hintereinander auf demselben Algenfaden aufgereiht (Fig. Q). Ein jedes kroch dann nach einer anderen Seite vom Faden weg. Merkwürdig oft scheint es vorzukommen, daß bei dieser Teilung ein Tier keinen Kern mitbekommt. Zur Zeit der lebhaftesten Vermehrung fand ich sehr oft solche ganz kernlosen Tiere, die vergnügt umherwanderten und sich in nichts sonst von gewöhnlichen Tieren unterschieden. Sie hatten oft verdante Nahrung in ihrem Innern, weshalb ich es für möglich hielt, daß der Kern verdeckt und der Beobachtung entgangen war. In den Präparaten fand ich sie aber dann oft wieder und konnte mich von der wirklichen Kernlosigkeit überzeugen. In Fig. 39 ist ein solches Tier abgebildet, das sich auf der Wanderung befand und eine reiche Archoplasmaansammlung besaß. Es wäre interessant zu wissen, ob solche Tiere noch Nahrung aufnehmen können. Die im Innern oft gefundenen ausgedauten Pflanzenzellen können aber schon bei der Teilung vorhanden gewesen sein, da solche Reste während der Teilung nicht entfernt werden. Übrigens erinnere ich mich einer Angabe von PÉNAUD — abgesehen von den allbekannten Untersuchungen Hoyer's — daß kernlose Diffugien noch wochenlang umherkriechen. Es sei schließlich noch bemerkt, daß in sich teilenden Mastigellen stets eine besonders reiche Menge von Bacteroiden angetroffen werden. Sie umgeben dann dicht die Spindel und die sich zur

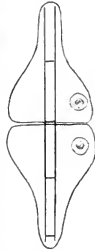


Fig. Q.

Teilung anschickenden oder geteilten Kerne; es läßt dies auch auf ihre Reservestoffnatur schließen, da der Teilung ja eine reichliche Ernährung vorangeht. Von besonderem Interesse wäre es auch, zu wissen, wie sich bei der Teilung die Geißel mit ihrem Wurzelapparat verhält, doch vermochte ich darüber nichts zu eruieren.

Auch über die Teilung der *Mastigina setosa* sind meine Erfahrungen recht unvollständige. Immerhin folgt aus den Bildern, die ich besitze, daß sie auf ganz andere Weise vor sich geht, nämlich mittels einer Art von Amitose. Das erste Stadium, das mir vorliegt, ist in Fig. 40 abgebildet. Es zeigt den Kern sehr stark vergrößert und in seiner Struktur verändert. Er ist elliptisch ausgezogen und zeigt das gesamte Chromatin in Form von Kügelchen an der Peripherie. Das Centrum wird von einer feinkörnigen schwach färbbaren Masse eingenommen, von der aus feine Körnchenreihen zu jedem chromatischen Kügelchen ziehen. Von der Geißel war nichts zu sehen, das übrige Protoplasma unverändert. Das nächste Stadium stellt Fig. 41 dar. Die Teilung des Kernes ist schon vollzogen und die beiden Tochterkerne unter der Oberfläche ein Stück weit aneinandergerückt. An dem einen Kern hängt ein Zipfel dichteren Protoplasmas, der auf die erst kurz vollendete Teilung schließen läßt. In jedem Kern ist das Chromatin wieder in Form von Kügelchen an der Peripherie abgelagert und das Centrum von einer körnigen Masse eingenommen. Aus jedem Kern entspringt in typischer Weise eine Geißel. Ein Vergleich von Fig. 40 u. 41 macht es sehr wahrscheinlich, daß die Tochterkerne durch eine einfache Durchschnürung des Mutterkerns zustande kommen. Dafür spricht auch die auffallende Ähnlichkeit dieser Stadien mit Teilungsbildern mancher Infusorienmacronuclei.

Sonnmehr rücken die beiden Tochterkerne unter der Oberfläche des Tieres aneinander. Solche Bilder habe ich oft gesehen (Fig. 42, 43), sie erwecken den Eindruck, als ob jedem Kern entsprechend sich ein Vorderende ausbilde, die nun selbständig nach verschiedenen Richtungen auseinanderkriechen und auf diese Weise sich immer mehr voneinander entfernen. In Fig. 42 zeigen die Kerne weitere Stadien der Rekonstruktion ihrer Struktur durch ineinanderfließen der chromatischen Kngeln. Der hier wenigstens an dem einen Kern besonders schön sichtbare Wurzelapparat wurde schon oben besprochen. Fig. 43 wurde abgebildet, um zu zeigen, daß gelegentlich noch eine Teilung stattfinden kann, wenn bereits die Gametenkerne gebildet sind. Das Ende des ganzen Prozesses zeigt endlich Fig. 44, wegen der riesigen Größe des betreffenden Tieres bei schwächerer

Vergrößerung. Die beiden Kerne sind mit ihren Geißeln an entgegengesetzte Enden des Körpers gelangt. Dieser schnürt sich in der Mitte ein und dürfte sich hier wohl bald durchgeschnürt haben, wenn das Tier nicht getötet worden wäre. Ich hoffe, daß es mir später noch einmal möglich sein wird, die Lücken dieses Abschnitts auszufüllen.

III. Die geschlechtliche Fortpflanzung der *Mastigella vitrea* und *Mastigina setosa*.

Wenn wir uns jetzt dem interessantesten Teil der Untersuchung, der geschlechtlichen Fortpflanzung, zuwenden, so sei nochmals vorans bemerkt, daß wenigstens bei der ganz durchsichtigen *Mastigella* alle wesentlichen Stadien zuerst im Leben beobachtet wurden und dann außerordentlich oft, bis auf wenige sogar Dutzende von Malen und mehr, im Präparat gesehen wurden. Die Aufeinanderfolge der einzelnen Bilder ist also ebenfalls nicht kombiniert, sondern auf Grund des Verfolgs am lebenden Objekt gegeben. Natürlich soll damit nicht gesagt sein, daß viele Einzelheiten, die als Zwischenstadien wesentlich sind, nicht auch nur in gefärbtem Zustand beobachtet werden konnten. Das versteht sich ja wohl von selbst.

1. *Mastigella vitrea*.

Der Eintritt der geschlechtlichen Fortpflanzung erfolgte in meinen Kulturen nach einer Periode überreichlicher Ernährung, als die hauptsächlich zur Nahrung dienende Alge auszugehen begann, also bei Hunger nach reichlicher Fütterung mit lebhafter ungeschlechtlicher Vermehrung. Es stimmt dies sehr gut mit den sonstigen Erfahrungen überein, besonders mit denen R. HEATWIG'S (1898) an *Actinosphaerium*, wo der Vorgang so präzise abläuft, daß im hiesigen Institut jeder Anfänger sich mühelos alle Stadien verschafft. Gleich von Anfang an kann man bei *Mastigella* zwei Wege einschlagen sehen, die zur Bildung von Macro- und Microgameten führen. Wegen ihres in manchen Punkten differenten Verlaufs müssen sie getrennt behandelt werden.

Nach der bekannten Nomenklatur seien die Formen des Tieres, die den Gameten ihre Entstehung geben, als Macro- und Microgametocyten bezeichnet, soweit der Vorgang sich in einer Cyste abspielt, reden wir von Macro- und Microgametocysten, die Fortpflanzungszellen heißen Macro- und Microgameten.

A. Die Entwicklung der Macrogametocyten.

Ein sich zum Macrogametocyten differenzierendes Tier ist zunächst äußerlich in nichts von einem gewöhnlichen Tier unterschieden. Es kriecht oder ruht und zeigt alle die typischen Lebenserscheinungen, die wir eben beschrieben haben, in unveränderter Weise weiter. Merkliche Veränderungen sind zunächst nur am Kern zu beobachten. Sie beginnen damit, daß bei unveränderter Kernstruktur an seiner Oberfläche im Plasma kleine lichtbrechende und kaum färbbare Tröpfchen verschiedener Größe auftreten, die wir nach ihrem späteren Verhalten als Nucleolarsubstanz bezeichnen müssen (Fig. 48, 55 *uu*). Sie bildet stets zunächst eine mehr weniger gleichmäßige Schicht um den Kern herum. Wir nehmen an, daß sie aus dem Kern stamme und an seiner Oberfläche durch die Kernmembran ausgeschwitzt wurde, ohne das hier beweisen zu können. Erst jetzt beginnen auch im Innern des Kernes Veränderungen wahrnehmbar zu werden. Sie bestehen in einer starken Anhäufung chromatischer Substanz an der Kernperipherie in dem hellen Raum zwischen der centralen Körnerkugel und der Kernmembran. Es scheint, daß diese Chromatinkugeln, die, wie Fig. 55 zeigt, von sehr verschiedener Größe sind, zum Teil wenigstens aus den chromatischen Körnchen entstehen, die schon früher an dieser Stelle lagen. Sie müssen aber auch aus der centralen Körnerkugel Zuwachs erhalten, da ihre Masse zu bedeutend ist, um nur von jenen kleinen Körnchen stammen zu können. Im Leben sehen die Kügelchen ebenso eigenartig lichtbrechend aus, wie das Caryosom. (Ich möchte hier gleich bemerken, daß ich, um die Abbildungen nicht noch mehr zu vermehren, davon Abstand genommen habe, alle diese Bilder auch nach dem Leben wiederzugeben. Wie sie im Leben aussehen, kann man sich nach den wenigen später zu besprechenden Cystenstadien, die nach dem Leben gezeichnet wurden [Fig. 4–8], ergänzen.) Bald darauf finden wir dieselben chromatischen Massen außerhalb des Kernes da wieder, wo vorher die Nucleolarsubstanz war. Wie dies zustande kommt, zeigt in besonders instruktiver Weise Fig. 56. Der Oberfläche des Kernes ist etwa im Bereich einer Halbkugel eine dichte unregelmäßig gestaltete Masse kleiner chromatischer Kügelchen angeschmiegt. Und im ganzen Bereich dieser Masse, aber auch nur hier, finden sich die gleichen Kügelchen im Innern des Kernes, dicht an der Kernmembran. Es kann gar keinem Zweifel unterliegen, daß hier eine Chromatinmasse aus dem Kern eliminiert wurde. Der Vorgang der Elimination selbst läßt sich im Leben nicht verfolgen, was

auch begreiflich ist, da der Durchtritt in gelöster Form erfolgt. Man sieht plötzlich im Plasma die Masse lichtbrechender, ein wenig opaleszierender Körnchen auftreten und dann anwachsen. Was bedeutet nun diese chromatische Masse? Es läßt sich Schritt für Schritt verfolgen, daß es die Substanz der künftigen Gametenkerne ist, die hier aus dem Kern eliminiert wurde. Wir bezeichnen die Masse (*Sp*) deshalb nach unserer Nomenklatur als *Sporetium*.

An dieser Stelle müssen ein paar Worte über die Nomenklatur eingeschaltet werden. Bekanntlich stellte R. HERTWIG (1902) für im Plasma liegendes Kernchromatin die Bezeichnung *Chromidien* auf, die sich seitdem allgemein einbürgerte. Die Vertiefung unserer Kenntnis solcher Bildungen, die für die Protozoenzelle von SCHAUDINN (1903), für die Metazoenzelle von mir (1904a) gegeben wurde, führte mich zu der Anschauung, daß unter dem Begriff *Chromidien* zwei verschiedene Dinge vereinigt werden, die aneinander gehalten werden müssen. Seine grundlegenden Untersuchungen über die Fortpflanzung der Rhizopoden hatten SCHAUDINN (1903) dazu geführt, einen Kerndualismus der Protozoenzelle, d. h. eine Unterscheidung zwischen somatischem und propagatorischem Kern anzunehmen. Ich selbst war von dem Studium der Metazoenzelle aus zu der gleichen Auffassung für das Gesamtgebiet der Zellenlehre geführt worden und schloß mich dann, als SCHAUDINN mich persönlich auf seine diesbezüglichen Sätze, die wegen ihrer Kürze leicht zu übersehen waren, aufmerksam gemacht hatte, rückhaltlos dieser von SCHAUDINN zuerst proklamierten Auffassung an. Ich mußte mir nun klar machen, daß somatische sowohl wie propagatorische Kernbestandteile in „*Chromidien*“form auftreten können und schlug deshalb vor, nur für die ersteren die Bezeichnung *Chromidien* beizubehalten, die letzteren als *Sporetien* zu bezeichnen (1904b). MESNIL (1905), der den gleichen Gegenstand in enger Anlehnung an meine Ausführungen referierte, schloß sich der Unterscheidung sachlich an, schlug aber vor, die Bezeichnung *Trophochromidien* und *Idiochromidien* zu wählen. Endlich hat SCHAUDINN (1905) in seinem Vortrage ebenfalls seine Zustimmung zu dieser Auffassung gegeben und als Termini seinerseits vorgeschlagen *Somatochromidien* und *Gametochromidien*.

Zweifelloos hat eine Zusammensetzung mit „*Chromidien*“ große Vorzüge. Denn 1. wendete HERTWIG, der Autor des Begriffes, diese Bezeichnung auf das eine wie das andere an, 2. ist das Wort *Chromidien* bereits sehr eingebürgert und vom ästhetischen Standpunkt ebenfalls zu bevorzugen, 3. legt es keinerlei theoretische Anschauungen zugrunde, sondern besagt einfach extranucleäres Chromatin.

Dagegen ist aber einzuwenden, daß diese Voraussetzungslosigkeit leicht zu einem großen Durcheinander führt, und da es keinem Zweifel unterliegt, daß die beiden Arten ihrem Schicksal nach verschieden sind, so sollte man sie auch von Anfang an mit verschiedenen Terminis belegen. Die Bezeichnungen somatische und propagatorische Chromidien statuieren aber einen prinzipiellen Unterschied, den ich zwar mit SCHAUDINN für richtig halte, den aber Forscher wie R. HERTWIG nicht anerkennen; man muß also einerseits Dinge, die zweifellos ihrem Schicksal nach verschieden sind, auseinanderhalten und vor Verwirrungen bewahren, andererseits aber auch in der Terminologie nicht noch nicht allgemein anerkannte theoretische Auffassungen, selbst wenn man von ihrer Richtigkeit überzeugt ist, zum Ausdruck bringen. Und deshalb halte ich es immer noch für am besten, daß wir in den Fällen, in denen extranucleäres Chromatin beobachtet wird, sprechen von

Chromidien im weiteren Sinne, ganz allgemein, wenn uns ihr Schicksal unbekannt ist,

Chromidien im engeren Sinne, wenn die betreffenden Substanzen für irgendwelche normalen oder pathologischen, formativen oder funktionellen Leistungen verbraucht werden,

Sporetien, wenn die betreffenden Substanzen dazu dienen, zur Bildung von Gametenkernen verbraucht zu werden.

Kehren wir nach dieser Abschweifung wieder dazu zurück, das weitere Schicksal der Sporetien zu verfolgen. Wir müssen da verschiedene Wege unterscheiden, die zwar alle zum gleichen Ziel, der Gametenbildung führen, aber im einzelnen etwas verschieden verlaufen. Die Verschiedenheiten beruhen im wesentlichen in der Anordnung des Sporetienmaterials und den entsprechenden Differenzen in den weiteren Umbildungen. Sie sind wohl von keiner großen Bedeutung und nur durch Strömungen im Plasma u. dgl. bedingt. Der erste Typus ist in den Fig. 49—54 dargestellt. Er beginnt damit, daß die Nucleolarsubstanz (*nu*) sich an einer Stelle der Kernoberfläche zu einer dichten Kappe anhäuft, deren einzelne Körnchen etwas stäbchenförmig sein können und so dem oben geschilderten Archoplasma sehr ähnlich sehen. Ich halte es daher auch nicht für ausgeschlossen, daß wirklich identische Bildungen vorliegen. Nunmehr beginnt wieder die Ausscheidung der Chromatinmassen aus dem Kern, sie werden aber sofort von der Nucleolarsubstanz zu einem kugelschalenartigen Körper zusammengefaßt, der wie eine Hanbe dem Kern aufsitzt. Damit rechtfertigt sich auch bereits die Be-

zeichnung Nucleolarsubstanz, als deren wesentliche Funktion R. HERTWIG (1898, 1902) erkannte, das Chromatin zu organisieren. Der so gebildete Sporetienhaufen besteht also aus einer nucleolaren Grundsubstanz, der zahlreiche kleine Chromatinkügelchen, die Sporetien, dicht eingelagert sind (Fig. 50). Im Leben ist jedes einzelne Kügelchen besonders schön durch seine starke Lichtbrechung charakterisiert. Nunmehr rückt die Sporetienkugel von dem Kern ab und liegt in seiner Nähe frei im Plasma (Fig. 51). In diesem Zustande habe ich sie 24 Stunden unverändert liegen sehen. Dann beginnt eine Auflockerung der ganzen Masse, die zu einer starken Vergrößerung der ganzen Bildung führt, die jetzt als ellipsoidischer Körper von mehr als doppelter Größe des Kernes erscheint, in dem die einzelnen Sporetien nunmehr viel deutlicher zu erkennen sind (Fig. 52). Nunmehr beginnen im Innern der Masse, wie an ihrer Oberfläche große Vacuolen zu erscheinen, die eine weitere Auflockerung herbeiführen (Fig. 53), und damit ist der Moment gekommen, in dem die Bildung der Gametenkerne aus den Sporetien beginnt. Sehr schön ist der Vorgang in Fig. 54 zu erkennen, die ein ganzes Tier inmitten dieses Vorganges zeigt. Man sieht, daß das Tier sich in seinen vegetativen Funktionen durch den ganzen Prozeß gar nicht stören ließ. Es hat einen kleinen Algenfaden umflossen und ausgesaugt und schickt nach den verschiedensten Richtungen seine Pseudopodien aus. An der Oberfläche finden sich zahlreiche Klebkörner, im Innern eine Menge Bacteroiden. Der Kern ist durch den Algenfaden etwas deformiert und in seiner Nähe liegt ein sternförmiger Haufen Nucleolarsubstanz (*nu*). In der Nähe dieses liegt nun der Rest der elliptischen Sporetienmasse, der immer noch in lebhafter Bildung von Gametenkernen begriffen ist. An dieser Stelle finden wir nun alle Stadien der Gametenbildung, die nicht gleichzeitig entstehen, sondern sukzessive. In Fig. 54a ist dieser Haufen stärker vergrößert dargestellt und da können wir den ganzen Prozeß erkennen. Zunächst vereinigen sich kleine Chromatinkörnchen zu größeren Kügelchen. Diese lockern central ihre Substanz auf, so daß sie im optischen Schnitt als chromatistische Ringe erscheinen. In deren Innern erscheinen dann feine Körner und damit ist ein Gametenkern gebildet. Die jungen Kerne gelangen nun an die Peripherie des Haufens und hier umgeben sie sich alsbald mit einem hellen Hof. In diesem Zustand geraten sie in das Plasma des Macrogametocyten, in dem sie, wohl durch die Strömung, verteilt werden. Dabei wächst der helle Hof zu einem kleinen Protoplasmaleib an und somit erhalten wir den in Fig. 54 wieder-

gegebenen Zustand eines Tieres, in dessen Plasma bereits zahlreiche junge Gameten zerstreut liegen (*g*), während noch weiterhin neue von einem einheitlichen Sporetienhaufen ausgebildet werden. Ist der Prozeß zu Ende geführt, so haben wir eine Mastigamöbe vor uns, deren Plasmaleib dicht mit kleinen Zellen angefüllt ist, wie es z. B. die später noch zu besprechenden Fig. 61 und 64 zeigen.

Dem Leser wird sich wohl bei dieser Schilderung zunächst der gleiche Gedanke aufdrängen, den ich auch hatte, daß es sich hier vielleicht um Parasiten handeln könne. Mir war der Gedanke besonders naheliegend, da ich ja genau die Präparate unseres leider so früh verstorbenen HANS PRANDTL kannte, dem es gelungen ist, den Entwicklungskreis einer *Allogromia* zu eruieren, deren geschlechtliche Prozesse im Innern der *Amoeba proteus* oder anderer Protozoen vor sich gehen (PRANDTL 1907). Es hatte sich dabei gezeigt, daß Amöben in geradezu unglaublicher Weise infiziert sein können, ohne daß ihre vegetativen Funktionen darunter litten. Mein Verdacht ward erst definitiv entkräftet, als ich das Ausschlüpfen der Gameten beobachtet hatte und aus ihnen wieder die *Mastigella* züchten konnte.

Der zweite Modus der Entstehung der Macrogameten schließt sich mehr an die eingangs generell gegebene Schilderung der Sporetienbildung an. Weder die Nucleolarsubstanz noch auch dementsprechend die Sporetien werden zu einer Kugel vereinigt. Die erstere verteilt sich in Strängen im Plasma und die Sporetien folgen dem mehr oder weniger. Es kommen dann Bilder, wie Fig. 57, zustande. Nun beginnt an irgend einer Seite dieser Masse die Umbildung der Chromatinpartikel zu Gametenkernen in genau der gleichen Weise, wie es oben geschildert wurde. Fig. 58 zeigt den Prozeß im Gange, Fig. 59 nahe seiner Vollendung. Die Bildung der Gameten und ihre Verteilung im Plasma bietet weiter nichts Neues.

Der dritte Modus unterscheidet sich von den anderen dadurch, daß die frisch gebildeten Sporetien sogleich im Plasma überall verteilt werden. Dementsprechend verläuft auch die Bildung der Gametenkerne etwas anders. In Fig. 62 ist ein solcher Fall abgebildet. Die Sporetien sind noch in einer Art Centrum (*sp*) vereinigt, von dem aber Körnchenreihen und isolierte Körnchen sich überall hinaus ins Plasma verteilen. An einigen Stellen im Plasma hat bereits die Gametenbildung begonnen. Sie ist in Fig. 62 A bei stärkerer Vergrößerung dargestellt. Man sieht zunächst die Sporetien gruppenweise (*a*) oder auch einzeln in den Maschen des protoplasmatischen Wabenwerkes gelagert. Dann findet man Gruppen

von dicht gedrängten Körnchen (*b*), die sich dann noch enger miteinander vereinigen und zwar oft zu zwei nebeneinanderliegenden Kernanlagen (*c*). Um diese Häufchen sondert sich dann, noch ehe sie sich zu einem einheitlichen Kern konsolidiert haben, wieder der helle Hof (*d*) und dann erst beginnen die Körnchen miteinander zu verschmelzen (*e*) und bilden in derselben Weise wie sonst den Gametenkern. Es wurden aber auch in den Präparaten Fälle beobachtet, in denen die Verteilung der Sporetien im Plasma des Macrogametocyten von Anfang an eine ganz diffuse war. Ein solcher Fall ist in Fig. 60 abgebildet. Im Plasma diffus zerstreut findet man kleinere und größere Gruppen von Sporetien, sowie in Bildung begriffene oder fertige Gameten. Bei stärkerer Vergrößerung ist ihre der eben geschilderten ähnliche Bildung in verschiedenen Stadien in Fig. 60A zu sehen. Nur in diesem Fall war es zu beobachten, daß in Gameten, deren Protoplasmaleib fertig gebildet war, der Kern noch ein Sporetienhäufchen darstellte. Zum Schluß dieser Schilderung sei mehr als Kuriosum darauf aufmerksam gemacht, daß die hier beschriebene Gametenbildung im Innern des Muttertieres einen Prozeß darstellt, der in seinen einzelnen Phasen in merkwürdigster Weise mit den Anschauungen übereinstimmt, die die Begründer der Zellenlehre von der Entwicklung der Zellen überhaupt hatten.

Wie der Protoplasmaleib der Gameten zustande kommt, ist mir nicht recht klar geworden. Daß sich, wie es sonst geschehen mag, ein Stück Plasma des Gametocyten um den Gametenkern sondert, ist hier nicht der Fall. Denu stets fand ich zuerst den hellen Hof, der an die berühmte Niederschlagsmembran erinnert. Wenn dann die Gameten heranwachsen, zeigen sie ein deutlich wabig strukturiertes Protoplasma. Vermittelnde Bilder, die dies erklären könnten, habe ich nicht gesehen.

Die Gameten erfüllen nun dichtgedrängt das Protoplasma. Sie zeigen meist eine länglich elliptische Form, sind aber auch oft kugelig und im Leben schon bei schwachen Vergrößerungen erkennbar. Auch der Kern ist im lebenden Tier gut sichtbar; bisweilen allerdings fiel mir auf, daß in den Gameten keine Spur davon zu sehen war. Die Erklärung dafür gaben mir Präparate, wie das in Fig. 61 abgebildete. Hier sind in zahlreichen Gameten Mitosen in verschiedenen Stadien zu sehen und es zeigte sich, daß es sich dabei um Reduktionsteilungen handelte. In Fig. 63 sind einzelne solche Gameten stärker vergrößert dargestellt. Ein erstes Stadium zeigt *a* mit einer kleinen Spindel, in deren Äquator zahl-

reiche winzig kleine und deshalb weder zählbare noch in ihrer Form bestimmbare Chromosomen liegen; *b* zeigt die Spindel sehr lang gestreckt und eine Art von Polkegeln von einer helleren inneren Zone abgesetzt. Näheres Detail ist wegen der Kleinheit des Ganzen nicht zu ermitteln. In *c* ist ein Stadium mit Tochterplatten dargestellt und *d* zeigt einen Gameten nach vollendeter Teilung. Am einen Pol liegt der Kern, am anderen eine unregelmäßige chromatische Masse, der Reduktionskörper. Es wäre natürlich sehr interessant gewesen, festzustellen, ob eine oder zwei Reduktionsteilungen vorliegen. Darüber konnte ich aber keinerlei Sicherheit erhalten, da die Reduktionskörper keinen Anhaltepunkt gaben und aus den Mitosen sich ebenfalls nichts schließen ließ.

Nunmehr ist das ganze Tier dicht erfüllt mit reifen Macrogameten und bietet entweder den Anblick, wie er in Fig. 64 bei starker Vergrößerung dargestellt ist. Es sind nur die in einer Ebene liegenden Gameten eingezeichnet, in Wirklichkeit sind es viel mehr. Ich schätze ihre Zahl auf 200—300. In den meisten erkennt man noch den Reduktionskörper. In dem abgebildeten Tier fand sich außerdem noch eine große dem Kern anliegende Masse Nucleolarsubstanz. Es ist dies der einzige Fall, in dem ich noch Nucleolarsubstanz in größeren Mengen nach der Gametenbildung fand. Über die Bedeutung dieser Erscheinung vermag ich mir keine Vorstellung zu machen. Bacteroiden sind immer noch in großer Menge vorhanden und im übrigen kriecht der Macrogametocyt umher und zeigt immer noch keinerlei Veränderungen seiner vegetativen Funktionen. Auch der Kern ist noch vollständig intakt, die einzige Veränderung, die er zeigt, ist, daß die chromatischen Körnchen der äußeren hellen Zone nicht mehr vorhanden sind und die innere Körnerkugel sich nicht mehr so stark wie vorher färbt. Im Leben sind solche Tiere, besonders wenn sie viel Nahrung enthalten, die die Gameten verdeckt, nicht von gewöhnlichen zu unterscheiden. Erst jetzt beginnt der Macrogametocyt sich zu encystieren. Den Detailvorgang der Encystierung will ich erst bei den Microgametocyten schildern, wo ich ihn besser verfolgen konnte. Es sei nur bemerkt, daß bei der Bildung der sehr zarten und durchsichtigen, aber resistenten Cysten-hülle die Klebkörner eine Rolle spielen. Dementsprechend zeigt das gerade im Moment der Encystierung abgetötete Tier (Fig. 65) die ganze Oberfläche mit Klebkörnern dicht bedeckt und charakteristischerweise war auch der Körnchenbesatz um den Kern vorhanden.

Die weiteren Vorgänge bis zum Ausschlüpfen der Gameten lassen sich begreiflicherweise nur nach dem Leben schildern. Fig. 6

zeigt eine solche Macrogametocyste nach dem Leben gezeichnet. Sie ist umgeben von einer bei sehr starker Vergrößerung doppelt konturierten Membran. Das Plasma ist von zahlreichen großen Vacuolen durchsetzt, in denen bisweilen noch Reste ganz oder halbverdauner Nahrung liegen. Zahlreiche Bacteroiden fallen durch ihre starke Lichtbrechung auf, ebenso kleine Körnchen, die eine Molekularbewegung zeigen. Der Kern enthält einen größeren und einige kleinere Binnenkörper und zeigt dasselbe schöne achromatische Wabenwerk, wie es vor der Teilung auftrat. Er ist umgeben von dem Kranz der uns wohlbekannten Körnchen. Die zwischen den Vacuolen liegenden Protoplasmazüge sind dicht erfüllt mit den Gameten, die genau Kugelgestalt haben und in ihrer Größe etwas differieren. Um das Bild nicht zu verwirren, sind nicht so viele dargestellt als wirklich vorhanden waren. Bei stärkster Vergrößerung zeigen sie feine Körnchen im Protoplasma, und hier und da auch den Kern. In diesem Zustande konnte ich die Cysten bis zu 24 Stunden beobachten. Dann sieht man mit einemmal einige der Vacuolen im Plasma zusammenfließen, so daß es noch gröber vacuolisiert wird wie bisher, und jetzt fangen auch die Gameten an sich zu bewegen. Bald hier, bald da sieht man einen von ihnen ruckweise eine kurze zuckende Bewegung ausführen, dann liegt er wieder eine Zeitlang still. Dieser Zustand dauert etwa 1 Stunde an, dann hebt sich plötzlich der Inhalt der Cyste von deren Membran ab, die so deutlich wird, und bringt so ein Bild zustande, das an ein befruchtetes Seeigeli mit weit abgehobener Dotterhaut erinnert. Der Prinzipalkern war bisher ganz unverändert; jetzt platzt plötzlich das Caryosom, d. h. man sieht es unter dem Mikroskop mit einem Schlage verschwinden, auch die übrigen Kernstrukturen werden nndentlich, und schließlich ist der ehemalige Kern nur noch an der Membran mit ihrem Körnchenbesatz zu erkennen. Dies Stadium ist in Fig. 7 dargestellt; man sieht vor allem die jetzt dichtgedrängten Gameten, die lebhaft hin und her zucken. Nach einer halben Stunde gelingt es ihnen endlich, sich aus dem Rest des Mutterkörpers zu befreien und in den durch das Platzen der Plasmavacuolen mit Flüssigkeit gefüllten Raum unter der Cystenmembran zu gelangen. Erst jetzt erkennt man, daß jeder Gamet eine lange Geißel besitzt, mit der er lebhaft umherschwimmt, bis plötzlich von dem wilden Trubel in ihrem Innern die Cystenhaut platzt und die Gameten austreten (Fig. 8).

B. Die Entwicklung der Microgametocyten.

Bei der Entwicklung der Microgametocyten können wir uns wesentlich kürzer fassen, da zahlreiche Details genau sich vollziehen wie bei den Macrogametocyten. Für die Beobachtung im Leben sind die Microgametocyten aber noch günstiger, weil sie sofort mit Beginn der Entwicklungsprozesse in ein Ruhestadium eintreten. Hier läßt sich der Prozeß der Encystierung, der etwa in einer Stunde abläuft, auch sehr schön verfolgen. Ein Tier, das im Begriff steht dies zu tun, ist sogleich daran zu erkennen, daß es keine fingerförmigen Pseudopodien zeigt. Man sieht vielmehr aus dem abgerundeten Körper bald nach dieser, bald nach jener Seite hin breite Ectoplasmasäume vorfließen. Den Eindruck, den man dabei erhält, möchte man so ausdrücken, daß das Tier nnschlüssig erscheint, nach welcher Seite es sich wenden soll. Die Ectoplasmamassen zeigen aber auch eine Besonderheit gegen sonst, sie sind nämlich auf das deutlichste feinwabig gebaut. Da man, wie bereits oben erwähnt, für gewöhnlich diese Struktur des Ectoplasmas nur im gefärbten Präparat sehen kann, so muß man wohl annehmen, daß in diesem Moment eine chemische Veränderung des Protoplasmas statthat, die die Lichtbrechung von Wabenwand und -inhalt so verändert, daß sie nunmehr durch ihre Differenz sichtbar werden, während sie vorher wohl vorhanden, aber durch gleichmäßiges Lichtbrechungsvermögen nicht nachweisbar waren. Nachdem dieser Prozeß der Ectoplasmavorwölbungen eine Zeitlang vor sich gegangen ist, tritt schließlich Ruhe ein, indem jetzt eine Kugel vorliegt, in der ein centrales dichtgekörnntes Entoplasma mit dem Kern von einem hyalinen Ectoplasmasaum mit feinwabiger Struktur umgeben ist. Die rechte Hälfte der Fig. 10 zeigt dieses Stadium nach dem Leben. Die Wabenstruktur des Ectoplasmas ist aber für die gewählte Vergrößerung zu groß eingetragen, um nicht der Abbildung einen unnötigen Umfang zu geben. Während dieses ganzen Prozesses hatten sich an der Oberfläche der Kugel die Klebkörner dicht angesammelt, wie die linke Hälfte der Fig. 11 darstellt. Und diese sieht man nun mit einemmal verschwinden und statt dessen eine doppelt konturierte, ein wenig gelblich schimmernde Cystenmembran auftreten. Stellt man im Moment ihrer Bildung auf die Oberfläche ein, so erhält man das in Fig. 11 wiedergegebene Bild: die Oberfläche ist bedeckt mit zarten laugen Fäden (die nicht etwa durch Falten vorgetäuscht werden), von denen oft mehrere parallel laufen. Ich glaube nicht fehlzugehen, wenn ich sie von den schlierenartig aus-

gezogenen Klebkörnern ableite, die auf diese Weise die Cystenmembran bilden.

Die fertigen Cysten sind in ihrer Größe außerordentlich verschieden. Sie schwankt im Durchmesser zwischen 55 und 80 μ . Dies hängt wohl im wesentlichen davon ab, wieviel Nahrungsreste und dementsprechend große flüssigkeitsgefüllte Vacuolen noch im Plasma vorhanden sind. Der Unterschied zwischen Ecto- und Entoplasma hat sich mit Abschluß des Vorganges wieder völlig ausgeglichen. Im Innern der vollständig durchsichtigen Cyste liegt der große Kern von bekannter Struktur, außerdem zahlreiche Bacteroiden und lichtbrechende tanzende Körnchen. Erst jetzt beginnt die Sporetienbildung aus dem Kern, die in gleicher Weise stattfindet wie bei den Macrogametocyten, so daß wir uns kurz fassen können. Auch hier beginnt der Prozeß mit der Bildung von Nucleolarsubstanz, die sich im Plasma verteilen kann, wie Fig. 66 zeigt. Um jede Masse dieser Substanz liegen die Bacteroiden in großer Zahl. Im Kern dieser Figur erkennt man auch bereits die peripheren Chromatinkörnchen, die die Sporetienbildung einleiten. Diese häufen sich wieder an der Kernoberfläche an, wie es oben geschildert wurde, und zwar lassen sich ebenfalls verschiedene Typen beobachten. Einmal kann sich genau wie bei den Macrogametocyten eine kompakte einheitliche Sporetienmasse dem Kern anschniegen, wie es in Fig. 67 dargestellt ist. In diesem Fall geht die Entwicklung zunächst wie bei den Macrogametocyten so weiter, daß sich die Masse vom Kern löst und als einheitlicher Haufen neben diesem liegt. Die Bildung des Gameten erfolgt aber erst, wenn die Sporetien sich, was innerhalb weniger Stunden geschieht, diffus im ganzen Plasma verteilt haben, wie sehr schön im Leben zu beobachten ist. In einem anderen Fall sammeln sich die Sporetien rings um den Kern an (Fig. 68) und verteilen sich erst von hier aus. Diese Verteilung kann dabei so vor sich gehen, daß sie reihenweise unter der Oberfläche der Cyste vorrücken, wie es in Fig. 70 dargestellt ist. Oder aber die Sporetien häufen sich an einer Seite des Kernes an, um von hier strahlig innerhalb der Plasmastränge an die Peripherie zu wandern (Fig. 69). Ein solches Stadium wurde auch für die Abbildung nach dem Leben Fig. 4 gewählt, eine nähere Erklärung ist wohl nicht nötig. Das Vorrücken ins Plasma auf verästelten Straßen zeigt Fig. 71.

Die Ausbildung der Gameten, deren Detail wie gesagt genau wie bei den Macrogameteten verläuft und deshalb nicht nochmals besonders geschildert werden soll, erfolgt also meist diffus im Plasma. Es kommt aber auch vor, daß im Plasma sich die Sporetien erst

wieder zu Gruppen ansammeln. Es dürfte dies wohl mit der Nucleolarsubstanz zusammenhängen, die ja auch wohl hier das Chromatin organisiert. Fig. 72 zeigt ein sehr charakteristisches solches Stadium, in dem außer den peripheren Sporetienhaufen auch noch reiche, den Kern umgebende Nucleolarsubstanz vorhanden ist. Die fertigen Gameten füllen nun wieder dichtgedrängt die Cyste an, wie Fig. 73 zeigt. Ob auch bei ihnen Reifeteilungen vorkommen, konnte ich nicht direkt beobachten. Abgesehen aber davon, daß dies schon an und für sich wahrscheinlich ist, fand sich in fertigen Gameten, wie Fig. 75 erkennen läßt, meist eine chromatische Masse vor, die dem Reduktionskörper der Macrogameten so sehr gleicht, daß zweifellos auch das gleiche vorliegt.

Was die Entwicklung der Microgametocyten weiterhin charakterisiert, ist, daß bei ihnen im Gegensatz zu den Macrogametocyten der Kern alsbald nach der Sporetienbildung degeneriert. In Fig. 72 sehen wir ihn bereits in ganz anormalem Zustande, verkleinert und chromatinarm. In Fig. 73 zeigt er die typischen Degenerationserscheinungen, Zerfall und starke Vacuolisierung des Caryosoms. In der Cyste Fig. 74 ist er völlig degeneriert, bildet eine flache kuchenartige Masse, die dicht mit stark färbbaren Stäbchen angefüllt ist. Eine ähnliche solche Cyste ist nach dem Leben in Fig. 5 dargestellt, in ihr war aber der Kern überhaupt vollständig verschwunden. Diese Verschiedenheit im Verhalten des Kernes scheint, wenn AWERINZEW's (1906) kurze Angaben richtig sind, ein Analogon bei *Arcella* zu haben. Er schreibt: „Bei *Arcella* schlägt die Degeneration der primären Kerne (der Stoffwechselkerne) bei dem Beginn des Reproduktionsprozesses zweierlei Wege ein: entweder verlieren diese Kerne allmählich ihr Chromatin und existieren noch zu der Zeit, wo in dem Protoplasma der betreffenden Rhizopode infolge der Konzentration der chromidialen Substanz die neuen, sekundären Geschlechtskerne auftreten, oder aber die primären Kerne werden noch vor der Differenzierung der sekundären Kerne, nachdem sie etwas Chromatin eingeblüßt haben, aus dem Protoplasma nach außen gestoßen, wobei nach einem derartigen Ausstoßen in dem Protoplasma von *Arcella* ebenso wie wir dies auch in dem ersteren Fall gesehen haben, eine gewisse Anzahl von Geschlechtskernen auftritt.“ In ersterem Fall werden dann Microgameten, im letzteren Macrogameten gebildet. (Das umgekehrte Verhältnis bei *Arcella* ist nur scheinbar, weil die Macrogameten der *Mastigella* ja morphologisch Microgameten zu vergleichen sind.) Die Cyste ist jetzt reif, um die Gameten ausschlüpfen zu lassen. Dies geschieht aber in

einfacherer Weise wie bei den Macrogameten, ohne daß sich der Cysteninhalt von der Membran abhebt, sondern durch einfaches Platzen, wobei die Microgameten, die der Geißel entbehren, aus der Cyste herausgeschleudert werden. Es bleiben dabei aber immer zahlreiche Gameten, die nicht frei werden, innerhalb der zusammenfallenden Membran zurück, und ein solches Präparat ist in Fig. 75 dargestellt.

C. Die Copulation und metagame Entwicklung.

Die ausgetretenen Macrogameten haben einen Durchmesser von im Durchschnitt $3,6 \mu$, wenn die Größe auch einigermaßen schwankt. Sie sind absolut kugelig und lassen den kleinen Kern im Innern erkennen und ein feinschanmiges Protoplasma, dem kleine Körnchen eingelagert sind. An einem Ende entspringt aus einem deutlichen Körnchen eine $15-18 \mu$ lange Geißel. Im Ruhezustand wird sie wie eine Borste starr ausgestreckt. Hat man eine Macrogametocyste isoliert und die Gameten sind ausgeschlüpft, so schwimmen sie zuerst durch heftiges Schlagen mit der Geißel lebhaft umher, ohne daß sie aber sich dabei weit von der verlassenen Cystenwand entfernen. Nach etwa einer halben Stunde liegen aber die meisten still und schlagen langsam mit der nach aufwärts gewandten Geißel, die dabei die in Fig. 12 gezeichnete Biegung zeigt. Nach einer weiteren Stunde hört auch diese Bewegung auf und nach einigen Stunden sind die Gameten tot.

Die Microgameten messen im Durchschnitt $2,8 \mu$ im Durchmesser und zeigen viel geringere Schwankungen in der Größe. Es sind ebenfalls kugelige Körperchen, deren Kern nicht immer zu sehen ist (Fig. 12a). Sie bleiben da liegen, wo sie beim Ausschleudern aus der Cyste hingerieten, da ihnen ja die Geißel und somit die Bewegungsfähigkeit fehlt. Ihre Lebensdauer ist eine größere als bei den Macrogameten, denn sie wurden noch nach 48 Stunden intakt gefunden.

Die Copulation der Gameten läßt sich beobachten, wenn man eine Anzahl verschiedenartiger Cysten unter dem Deckglas isoliert hat. Liegt eine Macro- und Microgametocyste nahe genug beieinander, so schwimmen die Macrogameten auf die Microgameten zu und verschmelzen mit ihnen. In Fig. 12c ist der Beginn dieses Prozesses gezeichnet, in d ist er weiter gediehen und die Zygote hat eine nierenförmige Gestalt angenommen. Die Geißel des Macrogameten bleibt dabei erhalten und wird zur Geißel der neuen Generation. Natürlich wird wohl eine Kernverschmelzung der beiden

Gameten stattfinden. Im Leben konnte ich sie aber nicht sehen und Präparate dieser Stadien waren nicht zu erhalten. Die junge Zygote erscheint nun als ein kleiner Flagellat und behält bis auf weiteres diesen Zustand auch bei. Im gefärbten Zustand zeigt sie nicht mehr als auch im Leben wie Fig. 80 beweist.

Der kleine Flagellat wächst nun heran und zwar ziemlich schnell. Schon nach 18 Stunden hat er den 3fachen Durchmesser erreicht, wie Fig. 13 zeigt. Sein Protoplasma erscheint lockerer wie bisher, enthält meist an einem Pol gelagert zahlreiche lichtbrechende Körnchen und im Centrum den Kern, der stärker angewachsen ist, als seinem ursprünglichen Größenverhältnis zum Plasma entspricht. Von einem stark lichtbrechenden Körnchen entspringt die Geißel und nicht weit von ihrer Basis liegt eine kleine contractile Vacuole, die in regelmäßigen Abständen von 14 Sekunden pulsiert. Der Flagellat, den man seinem Ban nach zu den Monaden stellen würde, liegt meist ganz ruhig und führt dabei mit der Geißel regelmäßige, wellige Schlagbewegungen aus. In diesem Zustand wächst er weiter heran, indem er sich von herbeigestrudelten Bakterien nährt und erreicht bereits 48 Stunden nach der Copulation die in Fig. 14 gezeichnete Größe von $14\ \mu$ Durchmesser. Der Kern ist unverhältnismäßig stark angewachsen, Geißel, Unbeweglichkeit und contractile Vacuole unverändert. Und jetzt beginnt der Flagellat sich lebhaft durch eine typische Flagellatenteilung zu vermehren. Fig. 15 zeigt einen solchen Teilungszustand, der sich durch die geradlinig scharf einschneidende Teilungsfurche charakterisiert. Die frisch aus der Teilung hervorgegangenen Individuen sind lang eiförmig und schwimmen sehr lebhaft mit der Geißel nach vorne umher (Fig. 16). Bald knigeln sie sich aber wieder ab, schwimmen noch eine Zeitlang herum, bleiben dann liegen und wachsen wieder auf die alte Größe heran. Auf diese Weise erhielt ich sowohl unter dem Deckglas, wo ein reicher Bakterienrasen gute Nahrung bot, als auch in Uhrsälchenkulturen, die viele reife Cysten enthalten hatten, in wenigen Tagen zahllose Flagellaten. Im Uhrglas sammelten sie sich meist am Rand an. Wir haben also in der metagametischen Entwicklung der *Mastigella* einen monasartigen Flagellatenzustand, der längere Zeit anhalten kann. Es ist dies kein isoliertes Vorkommen bei den Rhizopoden; erst kürzlich wurde von PRANDTL (1907) für *Allogromia* ein der Ausbreitung der Art dienendes Flagellatenstadium beschrieben.

Nach einigen Tagen derartiger Vermehrung hörten aber die Teilungen auf und es war auffallend, daß alle Tiere eine starke

Tendenz zur Formveränderung zeigten. Anfänglich waren es nur stumpfe Höcker, die gebildet wurden, wie es ja auch bei echten Flagellaten beobachtet wird (Fig. 17). Bald konnte man aber sehen, daß die Flagellaten große Bakterien in derselben Weise umflossen und verzehrten, wie es die erwachsene *Mastigella* tut, was Fig. 18 schön zeigt. Und schließlich traten gelegentlich an der Oberfläche feine spitze Pseudopodien auf, wie Fig. 19 zeigt. Oder aber es wurde ein breites hyalines Pseudopodium vorgestreckt, wie in Fig. 20 zu sehen ist. Kurzum, der Flagellat ging in den Zustand der Mastigamöbe über. Die typische Wanderform mit einem großen hyalinen Pseudopodium, auf dessen Spitze die Geißel sitzt und das auch seitliche Pseudopodien treibt, wurde beobachtet (Fig. 21) und endlich stellten sich auch die Klebkörner ein, wie Fig. 22 zeigt. In diesem Stadium ließ sich auch bereits die typische Kernstruktur der *Mastigella* erkennen. Gefärbt ist ein der Figur 21 entsprechendes Tier in Fig. 81 abgebildet. Bis zu diesem Moment ließ sich die Entwicklung Schritt für Schritt unter dem Deckglas verfolgen. Weiter ging sie aber hier nicht und zwar glaube ich, daß die Ursache der eintretende Nahrungsmangel war, da von jetzt ab keine Bakterien mehr aufgenommen werden, sondern Algenfäden und Diatomeen in der für das erwachsene Tier geschilderten Weise. In den Uhrschildchenkulturen wuchsen sie dagegen weiter; Zeitangaben über das Alter sind hier natürlich nicht möglich. Im allgemeinen boten die jungen Tiere keine wesentlichen Besonderheiten dar. Im Anfang fand ich die Bewegung häufig strömend, etwa in der Art der *Amoeba proteus* (Fig. 23, 24). Das in Fig. 23 abgebildete Tier ließ schon die Körnchenzone um den Kern erkennen, während das in Fig. 24 sich durch den Besitz zahlreicher Stärkekörner im Entoplasma auszeichnete. Von dem weiteren Wachstum ist nun noch zu bemerken, daß gelegentlich an jungen Tieren eine Pseudopodienbildung auftrat, wie sie an Erwachsenen nie beobachtet werden konnte. Fig. 25 zeigt eine solche Form — immer noch bei der gleichen Vergrößerung wie die vorhergehenden Stadien — mit ihren außerordentlich langen und spitzen Pseudopodien. Bei diesem Exemplar war das Entoplasma dicht gefüllt mit teilweise grünen Körnchen. Die weitere Entwicklung bis zum ausgewachsenen Zustand bietet nichts Besonderes dar; das einzige Bemerkenswerte ist vielleicht, daß jüngere Tiere in noch viel höherem Maße durchsichtig sind als erwachsene, so daß sie manchmal nur bei völliger Abblendung sichtbar sind.

Zum Schluß dieses Abschnitts sei noch einmal kurz der Zeugungs-

kreis der *Mastigella vitrea* an Hand der schematisierten Skizze Fig. R rekapituliert. 1, 2, 3 zeigen die drei typischen Erscheinungsformen der *Mastigella* in Ruhe, Fressen und Wanderung. Die vegetative Vermehrung geschieht durch eine mitotische Zweiteilung (3a) mit langanhaltender Doppelkernigkeit (3b). Die geschlechtliche Fort-

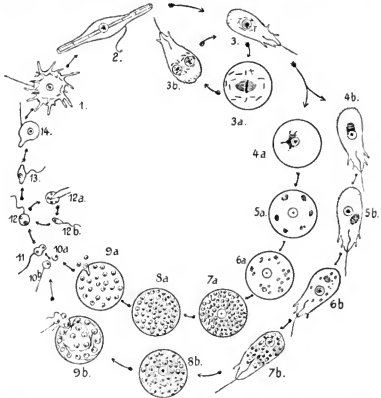


Fig. R.

pflanzung wird eingeleitet durch die Sonderung in Macro- und Microgametocyten, indem erstere weiterhin im amöboiden Zustand verharren und äußerlich in Bewegung, Nahrungsaufnahme usw. sich in nichts von gewöhnlichen Tieren unterscheiden. Im Innern geht aber inzwischen die Gametenbildung vor sich. Im Kern gehen Veränderungen vor, die mit der Ausstoßung chromatischer Massen ins Protoplasma enden (4b). Dieser Sporetienhaufen kann als einheitliche Masse beisammen bleiben und dann wie ein 2. Kern aussehen (5b)

oder sich nach verschiedenen Typen im Plasma verteilen. Die einzelnen Sporetien wandeln sich dann, je nach ihrer vorherigen Verteilung etwas verschieden, in kleine Gametenkerne um, von denen sich ein jeder mit etwas Protoplasma umgibt (6b). Schließlich ist der ganze Macrogametocyt vollständig mit Gameten erfüllt. Haben sie eine gewisse Größe erreicht, so bildet ihr Kern eine Richtungs- spindel und es wird ein (vielleicht auch zwei) Reduktionskörper ausgestoßen. Jetzt knegelt sich das Tier ab und bildet eine Cyste (8b). Nach einiger Zeit geht der alte Prinzipalkern zugrunde, die Gameten beginnen sich zu bewegen, der Inhalt der Cyste zieht sich von der Membran zurück, diese platzt und die Macrogameten werden frei (9b).

Der Microgametocyt encystiert sich vor der Gametenbildung und bildet dann in gleicher Weise aus dem Kern die Sporetien (4a). Diese wandern meist zur Peripherie und können hier zahlreiche Gruppen bilden (5a). Aus ihnen bilden sich die Gametenkerne und Gameten in gleicher Weise wie beim Macrogametocyt aus (6a). Der Prinzipalkern degeneriert hier schon im Beginn des Prozesses. Schließlich ist die Cyste wieder ganz mit Microgameten gefüllt (7a) und platzt dann, wodurch die kleineren, geißellosen Microgameten frei werden (9a), dazwischen liegt wahrscheinlich auch eine Reduktionsteilung (8a). Die Gameten verschiedener Cysten copulieren miteinander (10, 11), wobei die Geißel des Macrogameten erhalten bleibt und die Geißel der neuen Mastigamöbengeneration bildet. Die Zygote nimmt aber zunächst monadenartige Flagellatengestalt an und vermehrt sich eine Zeitlang durch Längsteilung (12, 12a, b). Nur die gerade aus der Teilung hervorgegangenen Individuen schwimmen umher, die anderen liegen am Boden und schlagen kurz mit ihrer Geißel. Nach einiger Zeit beginnt dann wieder die amöboide Bewegung und das Tier wächst zur Mastigamöbe heran (13, 14).

2. *Mastigina setosa*.

Die geschlechtliche Fortpflanzung der *Mastigina* ähnelt in vielen Punkten der der *Mastigella*, zeigt aber doch einige Verschiedenheiten, die besonders für unsere theoretischen Auffassungen von Bedeutung sind. Leider vermag ich sie nicht mit der Vollständigkeit zu schildern wie für *Mastigella*, da die *Mastigina* doch im Verhältnis zur monatelang nach tausenden vorhandenen *Mastigella* ziemlich selten war. Immerhin genügen die Daten, die ich besitze, um ein einigermaßen vollständiges Bild zu geben. Wie dort, so wurden auch hier alle vorliegenden Stadien oft oder doch mehrmals beobachtet.

A. Die Macrogametocyten.

Auch bei *Mastigina* ist von Anfang an eine Differenz zwischen Macro- und Microgametocyten zu erkennen. Sie äußert sich in gleicher Weise wie bei *Mastigella* darin, daß erstere bis zur Ausbildung der Gameten ungestört ihr vegetatives Leben weiterführen, während letztere sich sofort encystieren. Ich habe oben bereits kurz mitgeteilt, daß sich in der erwachsenen *Mastigina* stets im Protoplasma chromatische Partikel finden, die nach ihrem Schicksal als Sporetien zu bezeichnen sind (propagatorische Chromidien). Ihre Verteilung im Plasma kann eine verschiedenartige sein. Sie können einmal den Anblick bieten, wie ihn Fig. 42 zeigt, d. h. große chromatische Körner, die ziemlich regelmäßig im gesamten Protoplasma verteilt sind. Oder aber es sind nicht so zahlreiche Gruppen kleiner Körnchen wie Fig. 40 zeigt. Sie können dann ziemlich regelmäßig in einer Zone des Protoplasmas in den Kanten zwischen den Vacuolen liegen, wie besonders schön das der Fig. 76 zugrunde liegende Tier zeigt. Ihre Sporetiennatur erweisen diese Körnchen, sobald die Fortpflanzung beginnt, indem sich aus ihnen die Gametenkerne entwickeln. Dies kann aber auch hier wieder in etwas differenter Weise, je nach der Verteilung der Sporetien vor sich gehen. Ein Beispiel ist in Fig. 77 abgebildet. Hier bildeten sich die Kernchen aus größeren Chromatinkügelchen, die sich auflockern und ringförmig im optischen Schnitt erscheinen. Dann wachsen sie heran und nehmen typische Kernstruktur an. Die Verteilung dieser jungen Gametenkerne im Plasma ist dabei eine ganz unregelmäßige. In Fig. 77 liegen viele auf einen Haufen gedrängt im Hinterende des Tieres, in anderen Fällen waren sie diffus durch das Plasma verteilt usw. Waren die Sporetien schon vorher in Form kleiner Körnchengruppen ausgebildet, so bilden sich die Kernchen, ganz ähnlich wie bei *Mastigella*, durch Zusammenschluß der Körnchen, wie Fig. 89 zeigt. Jedenfalls ist schließlich der Macrogametocyt dicht angefüllt mit kleinen Gametenkernen. Ein Unterschied gegen *Mastigella* besteht darin, daß die Kerne lange nackt im Plasma liegen bleiben, ehe sich um sie eine Protoplasmaportion sondert. An dem ganzen Prozesse nimmt der Kern der *Mastigina* nicht den geringsten Anteil, er verändert seine Struktur in keiner Weise und liegt stets ganz für sich an der Oberfläche. Wie weitgehend seine Unabhängigkeit ist, zeigt das in Fig. 43 abgebildete Tier, das bereits vollständig mit fertigen Gametenkernen angefüllt ist und sich trotzdem noch teilt. Ein Analogon

dazu bieten die Beobachtungen PRANDTL'S (1907) an *Allogromia*, bei der sich auch die Gametocyten noch teilen können.

Erst jetzt sondert sich um die Gametenkerne ihr Protoplasma ab. In welcher Weise dies vor sich geht, vermag ich nicht zu sagen, da das lebende Tier nicht genügend durchsichtig ist und ich im gefärbten Präparat diese Stadien nicht erhielt. Jedenfalls ist das Ende des Prozesses das gleiche wie bei *Mastigella*, daß nämlich der Macrogametocyt vollständig mit Gameten gefüllt umherkriecht. Im Leben kann man dies besonders gut am Hinterende erkennen, das durchsichtiger ist und zu dem durch die Strömung immer wieder die Gameten geführt werden. Das Hinterende eines solches Tieres ist in Fig. 26 nach dem Leben wiedergegeben (*g* = Gameten). Im gefärbten Präparat besitze ich dies Stadium ebenfalls nicht, da die im Leben beobachteten Tiere bei ihrer relativen Seltenheit stets weitergezüchtet wurden und später, als dies nicht mehr nötig war, die geschlechtliche Fortpflanzung erlosch. Erst jetzt erfolgt, wieder in Übereinstimmung mit *Mastigella*, die Encystierung, deren genauen Verlauf ich wieder für die Microgametocyten darstellen werde.

Die fertige Macrogametocyste ist in Fig. 9 nach dem Leben dargestellt. Die Cyste zeigt stets in typischer Weise die dort zu erkennende ellipsoidische Gestalt. Sie ist im Gegensatz zu der der *Mastigella* sehr dickwandig und fest. Die Cystenhülle besteht aus zwei verschiedenen Membranen; die innere (*ic*) ist ziemlich dünn, homogen und durchsichtig und zeichnet sich durch einen gelblichen Schimmer aus. Die äußere ist viel dicker aber nicht vollständig gleichmäßig, sondern an den Polen etwas stärker. Sie ist glashell aber durch und durch mit feinen Körnchen durchsetzt. Die innere Hülle ist nichts anderes wie die erhärtete Pellicula des Tieres. Von der äußeren, deren Entstehung nicht direkt verfolgt werden konnte, nehme ich an, daß sie aus den verflüssigten Borsten entstand, was nicht so sehr merkwürdig ist, wenn wir die Homologie der Borsten mit den Klebkörnern zu Recht erkennen. Das Innere der Cyste ist ausgefüllt mit einer ungeheueren Menge dicht gedrängter Gameten (*g*). Sie müssen eine Geißel besitzen, da sie von Zeit zu Zeit ruckweise Bewegungen machen. Außerdem finden sich zahlreiche gelbe Ölkugeln (*oe*) unter der Oberfläche und kleine lichtbrechende Körnchen. Vom Kern ist in der dichten Gametenmasse nichts mehr zu erkennen. In diesem Zustand bewahrte ich die Cysten wochenlang auf, ohne daß die Gameten ausschlüpfen. Unter welchen Bedingungen dies geschieht, ist mir rätselhaft; in den Kulturen muß es bald nach Auftreten der Cysten geschehen sein, da dort ganz

junge Tiere auftraten, die sich dann zu typischen *Mastiginen* weiter entwickelten.

B. Die Microgametocysten.

Wie bei *Mastigella* so beginnt auch bei *Mastigina* die Microgametenbildung mit der Encystierung. Ein im Begriff der Encystierung stehendes Tier ist an dem Fehlen der Geißel zu erkennen, die entweder abgeworfen oder resorbiert wurde. Ein solches bewegt sich träge und directionslos hin und her. Am einen Ende des Körpers liegt der Kern, im Innern sind zahlreiche polygonale gelbliche Plättchen zu sehen. An dem dem Kern entgegengesetzten Ende tritt nun eine Art von Bruchsack hervor, dessen Oberfläche auch mit den typischen Borsten bedeckt ist, aber keine Spur der Pelli-cula zeigt, die am Beginn des Sackes plötzlich aufhört (Fig. S₁). Die

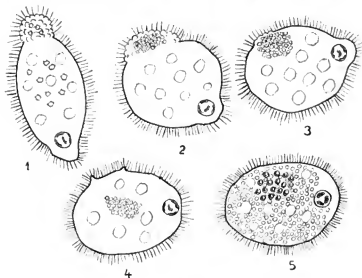


Fig. 8.

Oberfläche des Sackes ist von lauter kugeligen Höckern begrenzt die dem Ganzen das typische Aussehen einer Maulbeere geben, womit FRENZEL trefflich derartige Bildungen verglich. Während nun das Tier unter trägen plumpen Bewegungen seine Form fortgesetzt verändert, werden alle die gelben Plättchen allmählich durch die Plasmaströmung in den hinteren Sack gebracht, bis das Plasma völlig frei

von ihnen ist (Fig. S₄). Dieser Prozeß war in dem gezeichneten Beispiel in 2 Stunden vollendet. Und nunmehr wird der Sack wieder in den Körper eingezogen, während sich über ihm die Pellicula wieder schließt (Fig. S₅). Wenn dieser Prozeß beendet ist (nach etwa 3 Stunden), hat der Körper eine breit ovale Gestalt (Fig. S₄). Nun beginnt er wieder hin- und herzurollen, streckt nach verschiedenen Seiten breite hyaline Lappen vor und kommt endlich nach einer weiteren Stunde zur Ruhe, indem er die typische ellipsoidische Cystenform annimmt. Dann folgen in kurzen Abständen noch einige convulsivische Zuckungen mit Veränderungen der ganzen äußeren Form, bis nach ungefähr 5 Stunden vom Beginn des Prozesses dauernd Ruhe eintritt. Jetzt sieht man die Pellicula dicker werden und sichtlich zu einer derben gelben Membran erhärten. Die Borsten sind noch vorhanden und bleiben bei der Microgametocyste auch dauernd erhalten (Fig. S₅). Die polygonalen gelben Plättchen hatten sich während des letzten Prozesses an einer Stelle der Oberfläche beisammen befunden, indem sie wie ein Mosaik beisammen lagen. Mit Beendigung der Encystierung verwandeln sie sich plötzlich in kugelige Öltröpfchen. Der Kern hat bis zum Schluß der Encystierung seine normale Struktur in nichts geändert. In dem Plasma beginnen sich aber schon vor vollständigem Abschluß des Encystierungsprozesses Veränderungen abzuspielen (etwa nach 4 Stunden), die nun auch beobachtet werden können, weil durch die Ansammlung des deutoplasmatischen Materials an einem Punkte das Plasma jetzt durchsichtig ist. Man sieht plötzlich diffus im Plasma verteilt kleine lichtbrechende Kügelchen auftauchen, die nichts anderes sind als die Gametenkerne. Um sie tritt mit Vollendung der Encystierung ein heller Raum auf, das Plasma der Gameten, die nun immer größer werden. Zuerst sind sie in ihrer Größe sehr verschieden, etwa 8 Stunden aber nach Beginn des ganzen Prozesses sind sie alle gleich groß und erfüllen die jetzt fertige Cyste. Der Kern, der auf das schönste zu sehen ist, beginnt mit der Gametenbildung zu degenerieren. Man sieht sein durch starke Lichtbrechung charakterisiertes Chromatin sich zu größeren Klumpen zusammenballen und diese werden vacuolisiert. Mit Abschluß der Gametenbildung ist der Kern vollständig verschwunden.

Dieser Schilderung nach dem Leben läßt sich auf Grund der Präparate nur wenig noch zufügen. Die Ausbildung der Gametenkerne aus den Sporetien erfolgt in genau der gleichen Weise wie bei den Macrogametocyten. Fig. 78 zeigt eine solche Microgametocyste etwa zur Zeit der convulsivischen Zuckungen vor Schluß der

Encystierung, wodurch ihre unregelmäßige Gestalt bedingt wird. Im Innern findet die Bildung der Gametenkerne statt und zwar auch hier gruppenweise an verschiedenen Punkten der Cyste. In Wirklichkeit ist natürlich die Zahl der Gruppen eine viel größere, da nur ein optischer Schnitt gezeichnet ist. Viele Kerne sind schon fertig, andere in der bekannten Weise im Entstehen ans Sporetien begriffen. Der Kern der Cyste (Prinzipalkern) zeigt bereits die Zeichen beginnender Degeneration. Eine fertige Cyste zeigt endlich Fig. 79. Die an dem einen Ende der Pellicula aufsitzenden gestielten Bläschen sind Protoplasmatröpfchen, die beim Abtöten ausgepreßt wurden. Die Gametenkerne liegen mit einer gewissen Regelmäßigkeit im Protoplasma zerstreut, ohne aber schon ihr Plasma um sich abgegrenzt zu haben. Diesen letzteren Prozeß konnte ich auch bei den Microgametocyten nur im Leben beobachten. Der Prinzipalkern ist in vollständiger Degeneration begriffen, hat unregelmäßige Conturen, enthält vacnolisierte chromatische Massen und große mit einer schwach färbbaren Flüssigkeit angefüllte Blasen.

C. Die metagame Entwicklung.

An dieser Stelle muß ich in der Darstellung des Entwicklungszyklus der *Mastigina* einige Fragezeichen einschalten, da wie gesagt das Ausschlüpfen der Gameten und ihre Copulation nicht beobachtet werden konnte. Wenn man aber die prinzipielle Übereinstimmung der ganzen Vorgänge mit denen der *Mastigella* bedenkt, ist es wohl erlaubt anzunehmen, daß auch hier die Gameten in ähnlicher Weise copulieren. Ob allerdings der Copulation ein Flagellatenstadium folgt, dafür fehlen mir alle Anhaltspunkte. Dagegen traten nach der Cystenbildung in meinen Kulturen die ganz jungen Mastiginen an, die ich bis zur Umbildung in das erwachsene Tier verfolgen konnte, so daß ich diesen Teil des Zyklus abschließen kann.

Ihrer Größe nach können diese jungen Tiere nicht weit von der Zygote entfernt sein. Fig. 27 zeigt sie nach dem Leben, Fig. 83 im Präparat. Sie sind sofort an der eigenartig opaken Beschaffenheit ihres Plasmas zu erkennen. Im Vorderende des Körpers liegt der kleine kugelige Kern, und aus ihm entspringt die lange, nach vorn gerichtete Geißel. Im gefärbten Präparat erkennt man, daß der Kern einen großen chromatischen Binnenkörper besitzt und daß die Geißelbasis durch die Kernmembran hindurch zu diesem tritt. Bei etwas größeren Tieren kann man dieses merkwürdige Verhalten sogar im Leben beobachten. Die Bewegung dieser kleinsten Formen ist ein Schwimmen mit Hilfe der nur wenig sich bewegenden Geißel

unter ständiger amöboider Bewegung des Körpers. Nun wachsen die Tiere auf etwa das Doppelte heran, wobei die einzige Veränderung, die sie erleiden, ist, daß das Plasma eine deutliche feinkörnige Beschaffenheit annimmt. Jetzt aber vollzieht sich ein Prozeß von allergrößter Wichtigkeit. An der Oberfläche des Kernes wird eine chromatische, aus feinen Körnchen bestehende Masse ausgeschwitzt (Fig. 82), die, wie die stärker vergrößerte Fig. 82 A deutlich zeigt, halbmondförmig der an dieser Stelle nicht mehr sichtbaren Kernmembran aufliegt. Gleichzeitig ist der chromatische Binnenkörper des Kernes viel kleiner geworden. Wir haben hier nichts anderes vor uns als die Entfernung der Sporetien aus dem zuerst gemischten Kern, als die Trennung der somatischen und propagatorischen Kernsubstanz, die von jetzt ab für das ganze Leben erhalten bleibt. Die Sporetien rücken alsbald nach ihrer Elimination vom Kern ab und liegen als ein aus gleichmäßig großen, sehr stark färbbaren Körnchen zusammengesetzter Haufen irgendwo im Plasma (Fig. 86). Anfangs glaubte ich eine Zahlenkonstanz dieser Sporetien nachweisen zu können, mußte mich aber bald von dessen Unmöglichkeit überzeugen. Um das weitere Schicksal dieser Sporetien zu erledigen, so liegen sie noch eine Zeitlang in einem gemeinsamen Haufen beieinander (Fig. 85) und verteilen sich dann in verschiedener Weise im Plasma (Fig. 84, 87, 88). Dabei erfahren sie bis zum erwachsenen Zustande eine bedeutende Vermehrung, und da nichts darauf hindeutet, daß aus dem Prinzipalkern neuer Nachschub erfolgt, so müssen sie sich wohl selbständig ernähren und vermehren. Übrigens müssen wir das gleiche ja auch für die Sporetien (sog. Chromidialnetz) der beschalten Rhizopoden annehmen.

Die junge *Mastigina* selbst zeigt bei ihrem Heranwachsen von der Bildung der Sporetien an mancherlei interessante Besonderheiten. Das betrifft vor allem den Bewegungsmodus. Die Bewegung mit Hilfe der Geißel hört bald auf und an ihre Stelle tritt eine amöboide Bewegung von dem Typus der *Amoeba proteus*; Fig. T zeigt ein solches Tier mit seinen lappigen Pseudopodien. Dann folgt — es variiert dies etwas in der Zeit und der Größe der betreffenden Tiere

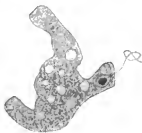


Fig. T.

— eine ausgesprochen amöboide Bewegung durch Rollen auf der Unterlage, und in diesem Zustande können dann, das einzige Mal im Leben, fingerförmige Pseudopodien gebildet werden. In Fig. 85 ist das Hervorbrechen solcher Pseudopodien aus der Pellicula zu sehen, ein besonders schönes Exemplar mit zahlreichen langen Pseudopodien ist nach dem Leben in Fig. 28 abgebildet. Nun folgt eine Zeit, in der die Bewegung bereits typisch *mastigina*-artig ist, wo aber auf der Oberfläche merkwürdig zugespitzte stachelartige Pseudopodien ausgestreckt werden. In Fig. 29 ist ein Tier mit wenigen Stachelpseudopodien nach dem Leben dargestellt, ein größeres mit sehr vielen zeigt nach einem Präparat Fig. 84. Endlich folgt das typische *Mastigina*-Stadium (Fig. 87), in dem dann die Bildung der Borsten aus Klebkörnern, wie schon oben geschildert, erfolgt. Fig. 30 zeigt nach dem Leben eine solche Form, die dicht mit den Klebkörnern besät ist, und Fig. 88 im Präparat ein Tier mit den fertig gebildeten, allerdings noch kurzen und sehr dichten Borsten. Von hier aus bis zum ausgewachsenen Tier — ein Wachstum auf etwa die 6fache Länge — ist nichts Besonderes mehr zu beobachten. In meinen Kulturen vollzog sich die gesamte hier geschilderte metagametische Entwicklung in etwa 3 Wochen.

Nach der Sporetienbildung erfährt auch der Kern Veränderungen, die ihn zum typischen *Mastigina*-Kern machen. Er wächst stark heran, der chromatische Binnenkörper in seinem Innern lockert sich auf, zerfällt in einzelne Partikel (Fig. 87), die dann an die Peripherie rücken und mit Entwicklung der Borsten (Fig. 88) ist auch der typische *Mastigina*-Kern nahezu fertig. Die Geißel ist nicht mehr in das Innere des Kernes zu verfolgen. Im übrigen bietet sie gegen die erwachsene *Mastigina* nichts Besonderes.

Zum Schluß dieses Abschnittes sei wieder der Entwicklungszyclus der *Mastigina* an Hand des Schemas Fig. U kurz resümiert. Die vegetative Vermehrung geschieht durch Zwei-Teilung, wobei sich der Kern amitotisch teilt und der Körperoberfläche entlang wandernd die beiden Kerne an das entgegengesetzte Ende gelangen, worauf die Teilhälften auseinanderkriechen (1, 1a, 1b). Die geschlechtliche Vermehrung beginnt wieder mit einer Sonderung von Micro- und Macrogametocyten. Bei letzteren bilden sich zunächst aus den zeit- lebens im Plasma verteilten Sporetien Gametenkerne (2b); um diese sondert sich etwas Protoplasma ab und so kriecht der Macrogametocyt mit intaktem Prinzipalkern vollständig mit Gameten gefüllt umher (3b). Nach einiger Zeit encystiert er sich, indem er eine eiförmige Cyste bildet, die von zwei Cystenhüllen umgeben ist,

von denen die innere von der Pellicula stammt, die äußere wohl aus dem Borstenbesatz; der Prinzipalkern verschwindet in der Cyste (4b). Der Prozeß der Microgametenbildung unterscheidet sich von dem geschilderten nur dadurch, daß der Microgametocyt sich sogleich encystiert und währenddessen die Gametenkerne gebildet werden (3a). Die Cystenhülle besteht hier nur aus der festgewordenen Pellicula, die Borsten bleiben erhalten. Der Kern degeneriert schon, bevor

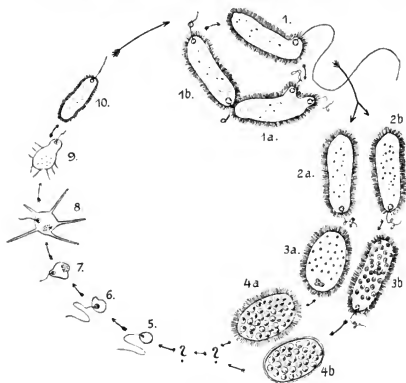


Fig. U

die Gametenkerne gebildet sind. Um diese sondert sich dann Plasma ab und die Microgameten sind fertig (4a). Das Ausschlüpfen der Gameten und die Copulation wurde nicht beobachtet. Die jungen, wohl direkt aus der Copulation hervorgegangenen Tiere haben noch kein Chromatin im Plasma (5). Dies, d. h. die Sporetien, wird aber schon sehr früh aus dem Kern eliminiert (6) und verteilt sich dann im Plasma (7). Den jungen Tieren fehlt das Haarkleid und sie sind

imstande, fingerförmige Pseudopodien zu bilden (8). Nach einiger Zeit tritt die charakteristische Rollbewegung ein und auf der Oberfläche entstehen stachelige Pseudopodien (9), endlich werden die Borsten aus Klebkörnern gebildet und der Kern nimmt auch seine definitive Struktur an.

IV. Systematisches.

Es erscheint notwendig, an die Schilderung der Lebensgeschichte der beiden Mastigamöben einige Betrachtungen über die Systematik dieser Gruppen anzuschließen, und zwar ist zunächst die Aufstellung der beiden neuen Spezies zu rechtfertigen. Was die *Mastigina setosa* anbetrifft, so ist dies leicht, da ein so auffallender Organismus selbst in der unvollkommensten Beschreibung wiederzuerkennen wäre. Soviel mir bekannt wurde, ist aber K. C. SCHNEIDER der einzige, der unsere Form schon beobachtete. Seine Schilderung lautet: „Ich hatte Gelegenheit, eine *Mastigamoeba* zu untersuchen, die sich von der *M. aspera* SCHULZE nur durch den Besitz von feinen starren Cilien (Borsten) unterschied. Da sich aber auch Exemplare ohne den Borstenbesatz fanden, so zweifle ich nicht an der Identität und wende den SCHULZE'schen Namen auf meine Form an. Die genauere Untersuchung zeigte folgendes: Es ist eine deutliche Pellicula, d. h. ein feines Häutchen, das sich vom Ectosark scharf abhebt, ausgebildet und auffällig charakterisiert durch eingelagerte glänzende Körnchen, die sich — je eines — an der Basis einer Cilie finden und daher als Basalkörner zu deuten sind (Fig. 7). Auch BLOCHMANN beobachtete an der Basis jeder Cilie bei seiner *Pelomyxa* einen glänzenden Punkt, „wie man ihn ja leicht an den Cilienursprüngen der Infusorien sieht,“ der also jedenfalls auch ein Basalkorn repräsentierte. Die Beziehung der feinen, relativ langen Borsten zu den Körnchen war an gelegentlich auftretenden kurzen Pseudopodien besonders deutlich zu erkennen (Fig. 7c und d). Aber außer den Borsten fanden sich auch kurze stäbchenförmige Gebilde auf der Pellicula (Fig. 7e), die mir identisch mit den von SCHULZE beschriebenen Rauigkeiten an der Oberfläche seiner Form zu sein scheinen. Ich möchte die Ansicht äußern, daß es sich hier um junge Borsten handelt, die vom Basalkorn, aus dem sie hervorstechen dürften, noch nicht scharf gesondert sind. Eine Fortsetzung der Rauigkeiten oder der Borsten ins Innere des Ectosarks hinein, etwa in Form eines Wurzelapparates war nirgends zu beobachten.

während gerade die Beziehung der uns hier nicht weiter interessierenden Geißel zum Kern, also ihre Fortsetzung ins Plasma, ohne weiteres festgestellt werden konnte (Fig. 7a).

Für *Dactylosphaerium* beschreiben HERTWIG und LESSER ein ähnliches ranhes Aussehen der Pseudopodien, bringen es aber zur Contraction in Beziehung und vergleichen die Rauigkeiten mit den Zöttchen, wie sie am Hinterende fast aller Amöben bei der Bewegung beschrieben wurden. Indessen hat diese Zottenbildung nichts mit Contractionszuständen zu tun, und ferner fand ich eine Amöbe, die in ihrem Anssehen ganz dem *Dactylosphaerium* glich, die aber auch an den gestreckten Pseudopodien (sowie am ganzen Körper) mit Rauigkeiten bedeckt war. Diese kleinen Höcker schienen mir im wesentlichen identisch mit denen der Mastigamöbe, so daß ich nicht Bedenken trage, mit BÜTSCHLI die HERTWIG-LESSER'sche Form mit der SCHULZE'schen (und LEIDY'schen) zu vereinigen. Mangel oder Vorhandensein einer Geißel erscheinen mir nicht von besonderer Bedeutung, da erstens die Geißel leicht übersehen, zweitens aber auch ihr Mangel ein rein zufälliger sein kann. Ich fand ein Tier (ohne Borsten, aber doch am Kern leicht als hierher gehörig erkennbar), das nur einen Geißelstummel besaß und derart die Möglichkeit völligen Verlustes nahe legte."

Es unterliegt nach dieser Beschreibung und der Abbildung gar keinem Zweifel, daß uns die gleiche Form vorlag. Ich kann aber nicht angeben, daß sie in irgend einem näheren Zusammenhang mit *Mastigamoeba aspera* steht. SCHNEIDER begründet dies vor allem mit der Annahme, daß das Vorhandensein und Fehlen der Borsten unwesentlich sei und daß sie aus den Rauigkeiten der *M. aspera* abgeleitet werden könnten. Ich kann beides nicht angeben. SCHNEIDER macht leider keine Größenangaben über die borstenlosen Exemplare, die er beobachtete. Ich sehe die Tiere jetzt schon seit fast 4 Monaten nahezu täglich und habe niemals ein erwachsenes Tier ohne Borsten gefunden. Daß sie in der Jugend fehlen, kann aber hier unberücksichtigt bleiben, da SCHULZE's Mitteilungen seinen Maßangaben nach sich auf sehr große Tiere beziehen und nicht auf die sehr kleinen Jugendstadien. Ich muß also die Borsten für einen durchaus konstanten und deshalb auch systematisch verwertbaren Charakter ansehen und das um so mehr, wenn man ihre oben geschilderte Rolle bei der Encystierung bedenkt. Was den zweiten Punkt anbetrifft, so bin ich ja auch von der Homologie der Borsten und Rauigkeiten (richtiger Klebkörner) überzeugt. Die Homologie ist aber nur vergleichend morphologisch, ist keine Identität, um so mehr als die

Borsten konstant sind, die Klebkörner aber, nach allem was wir wissen, nach physiologischem Bedürfnis auftreten. SCHNEIDER berücksichtigt aber auch gar nicht die Pseudopodienbildung, die doch im allgemeinen bei Rhizopoden unter normalen Bedingungen konstant ist. Die *M. aspera* verhält sich da aber nach SCHULZE folgendermaßen: „Trotz der mannigfach wechselnden äußeren Gestalt des Körpers, welche wie bei den meisten Amöben in ständiger Wandelung zu sein pflegt, läßt sich doch eine gewisse Grundform, welche sehr häufig wieder erscheint und am längsten bewahrt wird, nicht verkennen. Dieselbe kann im allgemeinen mit derjenigen einer horizontal liegenden Spindel verglichen werden, welche am einen Ende nur ganz leicht, am anderen stärker abgerundet, von oben und unten aber kuchenförmig abgeplattet ist. Von der Oberfläche des Körpers erheben sich, soweit sie nicht der Unterfläche aufliegt, zahlreiche fingerförmige Pseudopodien, von der Länge des Körperdurchmessers, welche gewöhnlich einfach, seltener an der Basis vereinigt sind, und mit einem abgerundeten, bisweilen etwas konisch verschmälerten, niemals aber fadenförmig oder ganz spitz auslaufenden Endteile aufhören. Wenn auch die Stellung und Richtung dieser bald weit ausgestreckten, bald in den Weichkörper sich spurlos zurückziehenden Pseudopodien eine sehr wechselnde und im einzelnen unbestimmte genannt werden muß, so läßt sich doch auch hierin eine gewisse Gesetzmäßigkeit der Anordnung bemerken, welche, wenn man sie einmal beobachtet hat, meistens sehr deutlich hervortritt. Es finden sich nämlich bei der vorhin angegebenen Normalgestalt des Tieres die fingerförmigen Pseudopodien auf der gerade nach oben gewandten, also der Rückenfläche nur wenig entwickelt, werden dagegen an den beiden Seitenrändern und dem spitzeren, beim Kriechen stets nach vorn gewandten, sagen wir daher einfach vorderen Ende weit ausgestreckt. — — Dadurch nun, daß die bedeutenderen Pseudopodien sämtlich von den beiden Seitenrändern und zwar annähernd rechtwinklig zur Oberfläche abstehen, und die dicht neben der vorderen Spitze befindlichen sich schräg nach vorn und außen richten, erhält der ganze Körper eine gewisse äußere Ähnlichkeit mit einem seitlich symmetrischen, mittels lateraler Extremitäten kriechenden Tiere, welche natürlich ganz oberflächliche Ähnlichkeit noch dadurch erhöht wird, daß gerade in der Nähe der Vorderspitze die Pseudopodien annähernd symmetrisch zu stehen pflegen.“

Nun haben wir aber gesehen, daß bei unserer *Mastigina* stets die amöboide Bewegung eine rollende ist, daß ferner im allgemeinen, außer dem Vorfließen am Vorderende überhaupt keine Pseudopodien

gebildet werden und daß, wenn solche überhaupt auftreten, es unscheinbare und unbeständige warzenartige Höcker sind. Es wäre doch sehr merkwürdig, wenn während der langen Beobachtungszeit niemals die von SCHULZE als typisch geschilderte Bewegungsart aufgetreten wäre, wenn es sich wirklich um die gleiche Form handelt. Dazn kommen aber noch weitere Differenzpunkte. SCHULZE gibt als typisch ein zugespitztes Vorderende an, von dem die Geißel entspringt. Dies ist bei der ganzen Bewegungsart der *Mastigina* aber für sie völlig angeschlossen und SCHNEIDER's Zeichnung stimmt da auch genau mit meinen Beobachtungen überein. Ferner hat *M. aspera* einen typisch birnförmigen Kern, wie er ja vielen Mastigamöben zukommt. Davon kann bei *Mastigina* keine Rede sein, er ist, abgesehen von vorübergehenden Deformationen stets kugelig, wie es ebenfalls auch SCHNEIDER abbildet. Schließlich fand SCHULZE den Kern der *M. aspera* so gelagert, daß seine hintere Hälfte vom Entoplasma bedeckt und unsichtbar war. Auch seine auf diesen Punkt bezügliche Schilderung macht eine Identität mit *Mastigina* unmöglich, da ihr Kern beim Vorwärtsfließen des Tiers stets wundervoll sichtbar ist. Nach alledem kann es also keinem Zweifel unterliegen, daß die von SCHNEIDER zuerst beobachtete Form eine neue Art darstellt.

Es wäre nunmehr zu rechtfertigen, weshalb sie dem FRENZEL'schen Genus *Mastigina* eingereiht wird. Dieses wurde für die beiden Arten *Mastigina chlamys* und *paramylon* aufgestellt mit der Begründung: „In das Genus *Mastigina* möchte ich einige derjenigen geißeltragenden Amöben einordnen, welche sich ihrer Gestalt nach teils mehr an das Genus *Saccamoeba*, teils mehr an *Amoeba* (im engeren Sinne) anschließen und deren Geißel auf dem Kern sitzt, sowie wir es auch noch bei dem Genus *Mastigamoeba* antreffen, das jedoch besser für sich bestehen bleibt.“ Unsere Form zeigt nun in Bewegung und dergleichen so viele Ähnlichkeiten mit der zweifellos sehr gut beschriebenen FRENZEL'schen Form *M. chlamys*, daß ich diesen Gattungsnamen akzeptieren möchte. Die Charakteristika der Gattung wären einmal die konstante und wichtige Beziehung der Geißel zum Kern und dann als Unterschied gegen *Mastigamoeba* der Mangel fingerförmiger Pseudopodien, *pelomyxa*-artiger Habitus. Eine Zusammengehörigkeit der *M. chlamys* und *setosa* dürfte ebenfalls auszuschließen sein. Wenn ich auch glauben möchte, daß FRENZEL's Angabe einer gestrichelten Hautschicht sich auf sehr dicht gestellte stäbchenartige Borsten bezieht, so ist der Unterschied der beiden Bildungen doch ein so großer, daß von einer Identität keine Rede sein kann.

SCHNEIDER möchte im Anschluß an BÜTSCHLI auch das *Dactylosphaerium vitreum* zu *M. vaspera* ziehen. Meiner Ansicht nach ist dies völlig ausgeschlossen. Soweit ich es beurteilen kann, ist das Vorhandensein oder Fehlen der Geißel kein unwesentliches Merkmal. Wenn SCHNEIDER dafür anführt, daß er ein Exemplar mit einem Geißelstummel beobachtet habe, so lag ihm ein Tier vor, wie ich es auch beobachtete, dessen Geißel beim Herausfangen abgerissen war. Ich konnte ja dann die Regeneration einer solchen Geißel feststellen. Natürlich kann man die Möglichkeit, daß die Geißel übersehen wurde, nicht ausschließen, wenn sie auch recht wenig Wahrscheinlichkeit für sich hat, gänzlich ausgeschlossen ist aber, daß die periphere Lage des Kerns übersehen wurde. PÉNARD (1902) vereinigt das *Dactylosphaerium* wohl mit Recht mit SCHULZE's *Amoeba polypodia* zu *Amoeba vitrea*. Daß ihm auch hier der Mastigamöbencharakter entgangen sei, ist völlig ausgeschlossen. Übrigens ist mir selbst diese Form wohl bekannt, und nach dem ganzen Habitus bezweifle ich nicht, daß PÉNARD's Homologisierung berechtigt ist. Was endlich die Homologisierung mit LEIDY's *Dinamoeba mirabilis* betrifft, die SCHNEIDER ebenfalls durchführen möchte, so ist sie auch ausgeschlossen, da BLOCHMANN (1894) wie PÉNARD (1902) die Form wieder gesehen haben und übereinstimmend mit LEIDY (1879) schildern. (BLOCHMANN fand, daß zwei Kerne vorhanden waren.) Mastigamöbencharakter wäre diesen beiden Forschern sicher nicht entgangen.

Was *Mastigella vitrea* anbetrifft, so ist sie von den bisher betrachteten Mastigamöbenarten grundsätzlich verschieden durch den Mangel an Beziehungen zwischen Geißel und Kern. Die einzige der bisher bekannten Mastigamöben, mit denen sie sich einigermaßen vergleichen ließe, ist FRENZEL's *Mastigella polymastix*, weshalb ich auch diesen Gattungsnamen beibehielt. Sie besitzt auch einen großen von der Geißel unabhängigen Kern, ein durchsichtiges Protoplasma und fingerförmige Pseudopodien. Der Hauptunterschied ist die schwankende Zahl der Geißeln, die 1—4 betragen kann. Es ist natürlich nicht ausgeschlossen, daß *Mastigella vitrea* schon früher als Amöbe beschrieben wurde, da ihre Geißel viel leichter zu übersehen ist, doch ist mir keine Form bekannt, auf die ich sie beziehen könnte.

Es ist vielleicht angebracht, in diesem Zusammenhang die bisher bekannten Mastigamöbenarten ein wenig zu sichten. Sieht man die Literatur darüber durch, so ergibt sich gleich, daß es wohl recht verschiedenartige Formen sind, die wegen des Besitzes von Geißeln bei sonstigem Rhizopodencharakter als Rhizomastiginen zusammengefaßt werden. Da ist zunächst eine Gruppe, mit der wir

vor der Hand noch wenig anfangen können. Es sind Formen, bei denen der Flagellatentypus überwiegt, wenn auch rein amöboide oder heliozoenartige Zustände beschrieben werden. Dahin gehören die *Cercomonas*, *Rhizomonas*, *Reptomonas* und *Cercobodo*-Arten. Vielleicht müssen sogar alle echten Monaden hierher gezählt werden. Eine Klassifizierung dieser Formen ist bis jetzt zwecklos; sie erforderte die Kenntnis ihres ganzen Entwicklungsganges, der sie möglicherweise als Jugendstadien anderer Formen erweise, wie es die Monasform meiner *Mastigella vitrea* beweist. Wir lassen sie also am besten hier ganz aus dem Spiel und stellen sie zu der Gruppe der Monadinen, im Bewußtsein, daß diese noch unverstanden sind. Eine zweite Gruppe stellen die heliozoenartigen Rhizomastiginen dar, wie die verschiedenen *Dimorpha*-Arten. Wenn diese auch gut charakterisiert sind, so können wir aus gänzlicher Unkenntnis ihrer Lebensgeschichte, doch nichts darüber aussagen, ob sie mit den eigentlichen Mastigamöben verwandt sind. Wir lassen sie deshalb ebenfalls hier beiseite und beschränken uns auf die Betrachtung der Mastigamöben im engeren Sinne, von denen auch nur die Formen zu berücksichtigen sind, die nach ihrer Beschreibung wieder zu erkennen sind.

Ich möchte vorschlagen, da vor der Hand 3 Gattungen zu unterscheiden, *Mastigamoeba*, *Mastigina* und *Mastigella*. Die ersten beiden umfassen alle die Formen, deren Geißel im Kern wurzelt, die letztere solche, bei denen eine solche Beziehung nicht besteht.

1. Genus. *Mastigamoeba* [F. E. SCHULZE].

Rhizopodenartiger Organismus, ausgezeichnet durch den Besitz einer aus dem Kern entspringenden Geißel. Die Körperoberfläche hat die Fähigkeit Pseudopodien zu bilden.

a) *M. aspera* [F. E. SCHULZE].

Vorderende beim Kriechen zugespitzt, Pseudopodien fingerförmig von etwa Körperdurchmesser, Körperoberfläche mit Klebkörnern ansgerüstet von der Gestalt eines *Bacterium termo*. Größe etwa 100 μ .

b) *M. lobata* [BÜTSCHLI] (*M. bütschlii* [KLEBS]).

Körperform polymorph mit breit aufgesetzten und fein zugespitzten Pseudopodien. Geißel 10 mal so lang als der Körper. Größe etwa 20 μ .

c) *M. ramulosa* [S. KENT].

Körper rundlich, stets auch beim Schwimmen mit kurzen verästelten Pseudopodien versehen. Geißel 2–3mal so lang als der Körper. Größe 60 μ .

d) *M. schulzei* [FRENZEL].

Habitus wie bei *M. aspera*; bildet aber sehr lange spitze und oft vielfach verästelte Pseudopodien. Die Körperoberfläche ist dicht mit borstenartigen Stäbchen bedeckt, die aber länger sind als die Klebkörner der *M. aspera*. Größe bis 120 μ .

2. Genus *Mastigina* [FRENZEL].

Rhizopodenartige Organismen mit aus dem Kern entspringender Geißel; Bewegung rollend, Körper walzenförmig ohne fingerförmige oder ähnliche Pseudopodien. Eine dicke Pellicula vorhanden.

a) *M. chlamys* [FRENZEL].

Habitus wie bei allen Arten der Gattung; ausgezeichnet durch einen Besatz mit radiären Stäbchen, die so gleichmäßig angeordnet sind, daß sie eine radiärgestreifte Hautschicht vortäuschen. Größe bis zu 75 μ .

b) *M. paranylon* [FRENZEL].

Der gleiche Habitus, keinerlei Differenzierung der Körperoberfläche, Hinterende bildet beim Kriechen einen Maulbeeranhang. Größe 50 μ .

c) *M. hylae* [FRENZEL] (*Tricholimnax hylae* [FRENZEL]).

Habitus wie vorige; Geißel kaum größer als der Kerndurchmesser; schwimmt vorwärts und rückwärts, ausgesprochene Fontänenströmung des Plasma. Lebt im Enddarm der Kaulquappen von *Hyla pulchella*. Größe 80 μ .

d) *M. limax* [MOROFF] (*Mastigamoeba limax* [MOROFF]).

Habitus der *Amoeba limax* mit zugespitztem Vorder- und stumpfem Hinterende. Geißel 3mal so lang als der Körper. Größe 20–25 μ .

e) *M. setosa* [mih] (*Mastigamoeba aspera* [SCHNEIDER]).

Habitus der Gattung, Körperoberfläche mit langen Borsten bedeckt, dicke Pellicula. Größe bis 140 μ .

3. Genus *Mastigella* [FRENZEL].

Rhizopodenartige Organismen mit einer oder mehreren Geißeln, die vom Kern völlig unabhängig sind.

a) *M. polymastix* [FRENZEL].

Pseudopodien fingerförmig oder zottenförmig nach allen Seiten ausgestreckt, niemals zahlreich, erreichen den Durchmesser des Körpers höchstens halb. Zahl der Geißeln zwischen 1 und 4 schwankend. Sehr großer Kern. Größe bis 80 μ .

b) *M. unica* [FRENZEL] (*Limulina unica* [FRENZEL]).

Wenige fingertörmige Pseudopodien, die auf bruchsackartigen Ausstülpungen des Körpers sitzen. Geißel sitzt stets am zöttchen-tragenden Hinterende. Größe 75 μ .

c) *M. Januarii* [FRENZEL] (*Micromastix januarii* [FRENZEL]).

Wenige fingerförmige radiäre Pseudopodien. Geißel kürzer als der Körperdurchmesser. Größe 40 μ .

d) *M. commutans* [MEYER] (*Mastigamoeba commutans* [MEYER]).

Zugespitztes Vorderende, das die Geißel von 5facher Körperlänge trägt, konstant, Hinterende amöboid beweglich. Contractile Vacuole wandert zwischen jeder Systole unter Formveränderungen im Körper herum. Größe 20 μ .

e) *M. radicula* [MOROFF] (*Mastigamoeba radicula* [MOROFF]).

Habitus ähnlich wie vorige. Bildet an der ganzen Körperoberfläche lappige Pseudopodien. Geißel ungefähr von Körperlänge. Größe bis 55 μ .

f) *M. polyvacuolata* [MOROFF] (*Mastigamoeba polyvacuolata* [MOROFF]).

Habitus wie vorige. Geißel $1\frac{1}{2}$ mal so lang als der Körper, zahlreiche im Körper verteilte pulsierende Vacuolen. Größe bis 35 μ .

g) *M. eilhardi* [BÜRGER] (*Mastigamoeba eilhardi* [BÜRGER]).

Ein großes kegelförmiges Pseudopod, in dessen Mitte die Geißel entspringt, und kleine kammförmige Pseudopodien am Hinterende. Geißel etwas über Körperlänge. Größe bis 80 μ .

h) *M. vitrea* [mihi].

Körper völlig durchsichtig, Pseudopodien fingerförmig aber kurz. Geißel in angestrecktem Zustand von über Körperlänge, in zurückgezogenem borstenartig. Stäbchenförmige Klebkörner vorhanden. Größe bis 150 μ .

Die vorstehenden Formen dürften nach den bisherigen Beschreibungen alle zu identifizieren sein. Natürlich ist es nicht ausgeschlossen, daß bei genauerer Kenntnis manche von den kleineren Formen in Wegfall kommen wird. Denn wir haben ja eben gesehen, daß die Jugendstadien großer Mastigamöben ganz beträchtlich von den erwachsenen Tieren verschieden sein können. Aus diesem Grund wurden auch Formen, die kleiner als 20 μ sind, hier gar nicht aufgeführt, zumal sie von Myxomycetenschwämmern ohnehin nicht zu unterscheiden sind. Solche Formen sind *M. simplex* [KENT], *M. invertens* [KLEBS] und auch die *bodo*-artigen *Dimastigamoeba simplex* und *agilis* [MOROFF]. Auch PROWAZEK's (1900) *Mastigamoeba viridis* möchte ich hier beiseite lassen. Aber auch die oben den 3 Gattungen eingereihten Formen dürften nicht ganz gleichwertig sein; vielmehr scheinen die ganz großen Arten viel schärfer definiert und es ist nicht ausgeschlossen, daß sie später einmal allein bestehen bleiben. Jedenfalls verdienen auch vom systematischen Standpunkt die Rhizomastiginen neue Beachtung.

Welche Stellung soll nun unseren Formen, wenn wir die Gruppe der Rhizomastiginen zunächst auf die 3 obigen Genera beschränken, im System zugewiesen werden? Seit BÜRSCHLI's Vorgang stellt man die Rhizomastiginen allgemein an die Basis der Flagellaten und betrachtet sie als eine Gruppe, die den Übergang von den Amöbinen zu den Monadinen vermittelt. Zweifellos mußte der Besitz einer Geißel als ein Merkmal von entscheidender Bedeutung angesehen werden. Ob dies heute noch der Fall ist, erscheint mir jedoch zweifelhaft. Es scheint mir vielmehr, daß die Fortpflanzungserscheinungen, da, wo sie bekannt sind, in zweifelhaften Fällen entscheiden müssen. Die Forschungen der letzten Zeit haben gezeigt, daß hierin nun eine außerordentliche Gleichmäßigkeit bei einzelnen Protozoengruppen vorzuliegen scheint. So scheint vor allem die Gruppe der Rhizopoden mit Ausschluß der Heliozoen in typischer Weise einen geschlechtlichen Fortpflanzungsprozeß zu besitzen, bei dem zahlreiche Gameten entstehen, deren Kerne einmal das Chromidien- oder richtiger Sporetienstadium durchmachen. Dies ist jetzt für nackte wie beschaltete Formen aus allen

Gruppen nachgewiesen, so daß es wohl als Gesetzmäßigkeit gelten kann. Von Flagellaten ist uns dagegen bisher kein derartiger Prozeß bekannt. Nun verhalten sich unsere beiden Rhizomastiginen in ihrer Fortpflanzung genau wie eine Foraminifere oder Testacee und so glaube ich, müssen wir die Familie den Rhizopoden einordnen als eine Familie der Amöbinen. Dazu ist allerdings zu bemerken, daß BÜTSCHLI die Rhizomastiginen für die niedersten Protozoen ansieht, von denen Rhizopoden wie Flagellaten abzuleiten seien. Wenn man sich auf diesen wohlbegründeten Standpunkt stellen will, so kann man annehmen, daß die Rhizomastiginen in ihren 3 differenten Untergruppen (echte Mastigamöben, *Dimorpha*-Arten, *Cercomonas*-Arten) die Ausgangspunkte für Amöbinen, Heliozoen und Flagellaten darstellen. Die echten Mastigamöben wären dann aber jedenfalls den Amöben bereits viel näher stehend als einer der beiden anderen Rhizomastigingen Gruppen. Ganz andere Ansichten hat KLEBS entwickelt doch möchte ich nicht tiefer in phylogenetische Spekulationen hineingeraten. Nur eine Einschränkung muß ich zum Schluß dieses Abschnitts noch machen. Die große Ähnlichkeit der Myxomycetenschwärmer mit Mastigamöben ist schon lange bekannt und die Möglichkeit eines Zusammenhangs beider Gruppen erwogen worden. So hält es PLENKE für möglich, daß die Mastigamöben eine Art von Schwärmerzellen von Myxomyceten darstellen. Dies ist nun nach obiger Schilderung ihrer Entwicklungsgeschichte unmöglich. Und doch möchte ich, obwohl scheinbar der Mastigamöbenentwicklungszyklus geschlossen ist, nicht definitiv jede Beziehung zwischen beiden Gruppen ablehnen. Ja, ich habe sogar positive Anhaltspunkte in dieser Richtung, muß mich aber, ehe es Beweise geworden sind, mit dieser Andeutung begnügen.

Zum Schluß gebe ich noch eine Bestimmungstabelle der obigen Arten der Rhizomastiginen:

	(Geißel entspringt aus dem Kern)	Fingerförmige oder ähnliche Pseudopodien	Mastigomorpha	Bewegung <i>Pelomyxa</i> -oder <i>Ameoba limax</i> -artig	Mastigina
		Geißel 10 mal so lang wie der Körper	<i>M. lobata.</i>		
		Geißel höchstens 3 mal so lang wie der Körper	{ Pseudopodien fingerförmig { Pseudopodien kurz und verästelt { Pseudopodien lang, spitz und verästelt	<i>M. aspera.</i> <i>M. ramulosa.</i> <i>M. schultzei.</i>	
		Hautschicht mit Borsten oder Stäbchen	{ Lange Borsten { Radiäre Stäbchen (gestrichelte Hautschicht)	<i>M. setosa.</i> <i>M. elhansg.</i>	
		Hautschicht indifferent	{ Geißel eine sehr kurze Borste { Geißel von Körperlänge { Geißel von 3 facher Körperlänge	<i>M. hyala.</i> <i>M. parameylon.</i> <i>M. limax.</i>	
		Geißel kleiner als Körpurchmesser	<i>M. Janowitzii.</i>		
		{ Fingerförmige Pseudopodien { Lapplage Pseudopodien { 2 contractile Vaeolen { Viele contr. Vaeolen	<i>M. polymastix.</i> <i>M. radicular.</i> <i>M. polyacrotolota.</i>		
	Geißel ungleichförmig vom Kern Mastigella	{ Fingerförmige Pseudopodien auf bruchseckartigen Erhebungen { Ein großes vorderes und viele kleine hintere Pseudopodien	<i>M. unica.</i> <i>M. elliptica.</i>		
		Geißel von 5 facher Körperlänge	<i>M. communis.</i>		
		Geißel bald im Borstenform, bald von Körperlänge, Klebkörner vorhanden	<i>M. vitrea.</i>		

Schluß.

Es läge nahe aus meinen Beobachtungen, die ich ohne theoretische Anseinandersetzungen oben gegeben habe, nun einige allgemeine Schlußfolgerungen zu ziehen. Insbesondere bieten meine Beobachtungen neue wichtige Belege für das Problem des Kerndualismus. Sind doch in den beiden geschilderten Formen die beiden Typen des gemischten Kerns, der sich erst im Begriff der geschlechtlichen Fortpflanzung in seine somatischen und generativen Teile zerlegt und der dauernden infusorienartigen Trennung der beiden Bestandteile nebeneinander vorhanden. Und gibt doch auch das Verhalten des Biebaroplastkernes der *Mastigina* neues Material, meine Anschauungen in bezug auf die Metazoenzelle zu stützen. Ich will aber hier von theoretischen Erörterungen absehen. Denn einmal hat sich mein Standpunkt, wie er in meinen früheren auf den Gegenstand bezüglichen Arbeiten (GOLDSCHMIDT 1904a, b, 1905, GOLDSCHMIDT u. POPOFF 1907) präzisiert ist, in keinem wesentlichen Punkt geändert. Und sodann möchte ich noch einige Zeit warten, bis sich weiteres Tatsachenmaterial angesammelt hat, um dann im Zusammenhang meine Vorstellungen für Protozoen- und Metazoenzellen zu entwickeln. Bis dahin möchte ich die Tatsachen für sich sprechen lassen.

Literaturverzeichnis.

- AWERINZEW, S. (1906): Die Süßwasserrhizopoden. I. 1. u. 2. in: Trav. Soc. Natnr. St. Petersburg V. 36. Russisch mit deutschem Resumé.
- BLOCHMANN, F. (1894): Kleinere Mitteilungen über Protozoen. Biol. Centralbl. V. 14.
- (1894): Zur Kenntnis von *Dimorpha mitans*. Biol. Centralbl. V. 14.
- BÜRGER, O. (1906): Estudios sobre Protozoos Chilenos de lagua dulce. Anali de la Universidad de Chile.
- BÜTSCHLI, O. (1878): Beiträge zur Kenntnis der Flagellaten und einiger verwandten Organismen. Zeitschr. f. wiss. Zool. V. 30 1878.
- (1883–87): Mastigophora. in: Bronn's Klassen und Ordnungen.
- (1897): Untersuchungen über mikroskopische Schäume und das Protoplasma. Leipzig.
- (1902): Bemerkungen über Cyanophyceen und Bacteriaceen. in: Arch. f. Protistenk. V. 1.
- CARTER (1864): On freshwater rhizopoda of England and India. Ann. nat. hist. 1864.
- CHENKOWSKY, L. (1862): Zur Entwicklungsgeschichte der Myxomyceten. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. V. 3.
- (1876): Über einige Rhizopoden und verwandte Organismen. Arch. f. mikr. Anat. V. 12.

- CLAPARÈDE, E. et LACHMANN, J. (1858): Etudes sur les infusoires et les Rhizopodes. Mém. Inst. nat. Générois V. 5—6.
- FISCHER, A. (1894): Über die Geißeln einiger Flagellaten. Jahrb. f. wiss. Bot. V. 26.
- FRENZEL, J. (1892): Untersuchungen über die mikroskopische Fauna Argentiniens. I. Die Protozoen. 1. u. 2. Aht. in: Bihl. Zoologica Heft 12.
- GOLDSCHMIDT, R. (1904): Die Chromidien der Protozoen. Arch. f. Protistenk. V. 5.
- (1904a): Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. Zool. Jahrb., Anat. Abt., V. 21.
- (1905): Eireifung, Befruchtung und Embryonalentwicklung des *Zoogonus mirus*. Ibid.
- (1905): Amphioxides. in: Ergebn. deutsche Tiefseexped. V. 12.
- (1907): Über die Lebensgeschichte der Mastigamöben. in: Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München.
- GOLDSCHMIDT, R. u. POROFF, M. (1907): Die Karyokinese der Protozoen und der Chromidialapparat der Protozoen- und Metazoenzellen. Arch. f. Protistenk. V. 8.
- GOUBRET, P. u. ROSER, P. (1888): Contributions à l'étude des Protozoaires de la Corse. Arch. Biol. V. 8.
- GRUBER, A. (1882): *Dimorpha mutans*. Zeitschr. f. wiss. Zool. V. 36.
- (1884): Studien über Amöben. Zeitschr. f. wiss. Zool. V. 41.
- GURWITSCH, A. (1904): Morphologie und Biologie der Zelle. Jena (G. Fischer).
- HAMBURGER, C. (1905): Zur Kenntnis der *Dunaliella salina* und einer Amöbe aus Salinenwasser von Cagliari. Arch. f. Protistenk. V. 6.
- HEIDER, C. (1886): Zur Metamorphose der *Oscarella lobularis* O. SCHN. Arch. Zool. Inst. Wien. V. 6.
- HERTWIG, R. (1879): Der Organismus der Radiolarien. Jen. Denkschr. V. 2.
- (1898): Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von *Actinosphaerium eichhorni*. Abh. Bayr. Akad. Wiss. V. 19.
- (1902): Die Protozoen und die Zelltheorie. Arch. f. Protistenk. V. 1.
- HOFER, B. (1889): Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß des Kernes auf das Protoplasma. Jen. Zeitschr. f. Naturw. V. 24.
- JENSEN, P. (1902): Die Protoplasmabewegung. Ergebn. Physiol. V. 1.
- KENT, F. SAVILLE: A manual of the infusoria. London 1880—81.
- KLEBS, G. (1892): Flagellatenstudien. Zeitschr. f. wiss. Zool. V. 55.
- KOLTZOFF, N. (1903): Über formbestimmende elastische Gehilde in Zellen. Biol. Centralbl. V. 23.
- (1906): Studien über die Gestalt der Zelle. I. Arch. f. mikr. Anat. V. 67.
- LANKESTER, RAY (1887): *Chlamydomyxa montana* n. sp. one of the Protozoa Gymnomyxa. in: Quart. Journ. Micr. Sc. N. S. V. 39.
- LEIDY, J. (1879): Fresh-water Rhizopods of North America. Rep. U. S. Geolog. Survey of the Territ. V. 12.
- LEYDIG, F. (1885): Die Zelle und die Gewebe. Bonn.
- LÖFFLER, T. (1889): Eine neue Methode zum Färben der Mikroorganismen, im besonderen ihrer Wimperhaare und Geißeln. Centralbl. Bakter. Paras. V. 6.
- MÅAS, O. (1890): Über die Entwicklung des Süßwasserschwammes. Zeitschr. f. wiss. Zool. V. 50.
- MESNIL, F. (1905): Chromidies et questions connexes. Bull. Inst. Pasteur V. 3.
- MEYER, H. (1897): Untersuchungen über einige Flagellaten. Revue Suisse de Zoologie V. 5.

- MOROFF, TH. (1904): Beitrag zur Kenntnis einiger Flagellaten. in: Arch. f. Protistenk. V. 3.
- PENARD, E. (1902): Faune rhizopodique du bassin du Léman. Genf 1902.
- (1890): Über neue oder wenig bekannte Protozoen. Jahresb. nassauisch Ver. Naturw. V. 43.
- PLENGE, H. (1899): Über die Verbindungen zwischen Geißel und Kern nsw. in: Verb. naturhist. Vereins Heidelberg N. F. V. 6.
- PRANDTL, H. (1907): Der Entwicklungskreis von *Allogromia* sp. Arch. f. Protistenk. V. 9.
- PROWAZEK, S. (1900): Potamoplankton der Moldau. Verh. zool.-bot. Ges. Wien.
- (1903): Flagellatenstudien. in: Arch. f. Protistenk. V. 2.
- (1904): Untersuchungen über einige parasitische Flagellaten. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte V. 21.
- PÜTTER, A. (1904): Die Flimmerbewegung. in: Ergebn. d. Physiol. V. 2.
- RHUMLER, L. (1898): Physikalische Analyse von Lebenserscheinungen der Zelle. I. Arch. f. Entwicklungsmech. V. 7.
- SCHAUDINN, F. (1894): *Camptonema nutans* n. gen. u. sp. Sitz.-Ber. d. kgl. preuß. Akad. d. Wiss. Berlin.
- (1895): Über die Teilung von *Amoeba binucleata* GRUBER. in: Sitz.-Ber. Ges. Naturf. Fr. Berlin.
- (1903): Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte V. 19.
- (1905): Die Befruchtung der Protozoen. Verb. d. deutsch. Zool. Ges.
- SCHNEIDER, K. C. (1905): Plasmastruktur und -Bewegung bei Protozoen und Pflanzenzellen. Arb. Zool. Inst. Wien V. 16.
- SCHUBERG, A. (1905): Über Cilien und Trichocyten einiger Infusorien. in: Arch. f. Protistenk. V. 6.
- SCHULZE, M. (1863): Das Protoplasma der Rhizopoden und der Pflanzenzellen. 1873.
- SCHULZE, F. E. (1875): Rhizopodenstudien. V. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. V. 11.
- (1900): Die Hexactinelliden. Fauna Arctica V. 1.
- STOKES, A. (1886): Notices of new freshwater Infusoria. Proc. Am. Phil. Soc. Philadelphia V. 23.
- (1888): Notices of new Infusoria Flagellata. Quart. Journ. micr. Sc.
- (1889): Notices on new freshwater Infusoria. Proc. Am. Phil. Soc. Philadelphia.
- TATEM (1869): On freeswimming Amoeba. Monthl. micr. Journ. V. 1.
- VAHLKAMPF, E. (1904): Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von *Amoeba limax* einschließlich der Züchtung auf künstlichem Nährboden. Inaug.-Diss. Marburg.
- VERWORN, M. (1890): Studien zur Physiologie der Flimmerbewegung. in: Arch. ger. Physiol. V. 48.
- (1892): Die Bewegung der lebenden Substanz. Jena.

Tafelerklärung.

Abkürzungen.

ac äußere Cystenhülle.
ach Achsenfaden.
ar Archoplasma.
bk Basalkorn.
cc kontraktile Vacuole.
ec Ectoplasma.
en Entoplasma.
fl Flagellum.
g Gameten.

gk Gametenkerne.
ic innere Cystenhülle.
kl Klebkörner.
kr krystallartige Bacterioide.
n Kern.
nu Nucleolarsubstanz.
oe Öltropfen.
sch Kernschornstein.
sw Geißelwurzel.

NB. Die Anordnung der Figuren auf den Tafeln entspricht nicht der natürlichen Reihenfolge, sondern ist durch die Rücksicht auf die Ausnutzung des Rahmes bestimmt.

Tafel V.

- Fig. 1. *Mastigina setosa* n. sp. Habitusbild nach dem Leben. Vergr. 815.
Fig. 2. *Mastigella vitrea* n. sp. Ruheform, Habitusbild nach dem Leben. Vergr. 815.
Fig. 3. Desgl. Wanderform, Habitusbild nach dem Leben. Vergr. 815.

Tafel VI.

Sämtliche Figuren der Tafel sind nach dem Leben gezeichnet.

- Fig. 4. *Mastigella vitrea*. Frischgebildete Microgametocyste in Sporetenbildung. Vergr. 1270, nachträgliche Verkleinerung auf $\frac{1}{3}$.
Fig. 5. Desgl. Microgametocyste mit fertigen Gameten angefüllt. Vergr. wie 4.
Fig. 6. Desgl. Macrogametocyste bald nach ihrer Bildung mit Prinzipalkern und Gameten. Vergr. wie vorige.
Fig. 7. Desgl. Macrogametocyste vor dem Freiwerden der Gameten. Prinzipalkern degeneriert, Körper von der Cystenmembran zurückgezogen. Vergr. wie vorige.
Fig. 8. Desgl. Anschließfen der Macrogameten. Vergr. wie vorige.
Fig. 9. *Mastigina setosa*. Reife Macrogametocyste mit Gameten und Ölkugeln. Vergr. 815.
Fig. 10. *Mastigella vitrea*. Bildung der Microgametocyste. Die Hälfte A zeigt die Oberfläche mit den Klebkörnern, die Hälfte B das Verhalten von Ecto- und Entoplasma. Vergr. ca. 600.
Fig. 11. Desgl. Ein weiteres Stadium von der Oberfläche. Vergr. ca. 600.
Fig. 12. Desgl. a Microgameten, b Macrogameten, c, d Copulationsstadien. Vergr. 1270.
Fig. 13. Desgl. Die Zygote nach ungefähr einem Tage. Vergr. 1270.
Fig. 14. Desgl. Die Zygote nach 2 Tagen. Vergr. 1270.
Fig. 15. Desgl. Teilung im Flagellatenstadium. Vergr. 1270.
Fig. 16. Desgl. Flagellat nach der Teilung. Vergr. 1270.
Fig. 17. Desgl. Beginn der amöboiden Bewegung. Vergr. 1270.
Fig. 18. Desgl. Verzehren eines großen Bacteriums. Vergr. 1270.
Fig. 19–21. Desgl. Übergang zur amöboiden Form. Vergr. 1270

Fig. 22–25. Desgl. Weitere Jugendstadien. Vergr. 1270.

Fig. 26. *Mastigina setosa*. Hinterende eines Macrogametocyten mit Gameten. Vergr. 815.

Fig. 27–30. Desgl. Metagametische Entwicklung. Vergr. 1270.

Tafel VII.

Fig. 31. *Mastigella vitrea*. Vorderende eines wandernden Tieres. Plasmastruktur und Pseudopodienbildung. Vergr. 1270.

Fig. 32. Desgl. Vorderende mit Geißelwurzel. Vergr. 1270.

Fig. 33. Desgl. Ende der Geißel im schlaffen Zustande. Nach dem Leben.

Fig. 34. Desgl. Beginn der vegetativen Teilung. Vergr. 815.

Fig. 35. Desgl. Äquatorialplatte der Teilungsspindel. Vergr. 815. In A ein Teil stärker vergrößert, in B dieselbe Spindel um 90° gedreht.

Fig. 36. Desgl. Anaphase der Spindel. Vergr. 815.

Fig. 37. Desgl. Kurz nach der Teilung des Kernes. Vergr. 815.

Fig. 38. Desgl. Ein zweikerniges Individuum auf dem Marsch. Vergr. 815.

Fig. 39. Desgl. Ein kernloses Tier auf dem Marsch. Vergr. 815.

Fig. 40. *Mastigina setosa*. Frühes Stadium der Kernteilung. Vergr. 815.

Fig. 41. Desgl. Anseinanderrücken der frischgeteilten Kerne. Vergr. 815.

Fig. 42. Desgl. Weiteres Stadium derselben Kerne mit schönen Geißelwurzelfäden. Vergr. 815.

Fig. 43. Desgl. Tier in Teilung, das bereits Gametenkerne enthält. Vergr. 815.

Fig. 44. Desgl. Kurz vor Auseinanderkriechen der beiden Tochtertiere. Vergr. 690.

Fig. 45. *Mastigella vitrea*. a, b, c verschiedene vegetative Kernzustände. Vergr. 815.

Fig. 46. *Mastigina setosa*. Kern mit Geißelursprung, in b Deformation desselben durch den Plasmastrom. Nach dem Leben. Vergr. 815.

Fig. 47. Desgl. Detail des Geißelursprungs, a im Leben, b im Präparat. Vergr. 815.

Tafel VIII.

Fig. 48–65. *Mastigella vitrea*. Entwicklung des Macrogametocyten.

Fig. 48. Bildung der Nucleolarsubstanz. Vergr. 815. Nur die Partie um den Kern dargestellt.

Fig. 49. Desgl.

Fig. 50–53. Der erste Typus des Verhaltens der Sporetien. Vergr. 815.

Fig. 54. Ganzes Tier. Beginn der Gametenbildung aus dem Sporetienhaufen. Vergr. 815. A. Der Sporetienhaufen stärker vergrößert.

Fig. 55. Vorbereitung des Kernes zur Sporetienbildung. Vergr. 1130.

Fig. 56. Der Moment der Sporetienbildung. Vergr. 1130.

Fig. 57–59. Bildung der Gametenkerne nach dem 2. Typus. Vergr. 815.

Fig. 60. Diffuse Gametenbildung. Vergr. 815. Bei A Detail stärker vergrößert.

Fig. 61. Macrogametocyt mit Gameten gefüllt, in denen die Reduktion vor sich geht. Vergr. 815.

Fig. 62. Gametenbildung nach dem 3. Typus. Vergr. 600. In A, a, b, c, d der Vorgang stark vergrößert.

- Fig. 63. a, b, c, d Stadien der Reduktionsteilung.
 Fig. 64. Macrogametocyt mit reifen Gameten. Vergr. 1130.
 Fig. 65. Macrogametocyt im Begriff der Encystierung.

Tafel IX.

- Fig. 66—75. *Mastigella vitrea*. Entwicklung der Microgametocyten. Vergr. 815.
 Fig. 66. Bildung und Verteilung der Nucleolarsubstanz.
 Fig. 67. Bildung der Sporetien.
 Fig. 68—71. Deren Verteilung in der Cyste.
 Fig. 72. Periphere Gruppenbildung der Sporetien.
 Fig. 73. Cyste mit fertigen Gameten und degenerierendem Primärkern.
 Fig. 74. Desgl. später nach der Reduktionsteilung.
 Fig. 75. Leere Cystenhaut mit zurückgebliebenen Microgameten. Vergr. 1130.
 Fig. 76. *Mastigina setosa*. Fressendes Tier mit diffusen Sporetien. Vergr. 815.
 Fig. 77. Desgl. Macrogametocyt mit in Bildung begriffenen Gametenkernen. Vergr. 815.
 Fig. 78. Desgl. Microgametocyste in Bildung mit Gameteukernen und degenerierendem Primärkern. Vergr. 815.
 Fig. 79. Desgl. Microgametocyste, weiteres Stadium. Vergr. 815.
 Fig. 80. *Mastigella vitrea*. Flagellatenstadium. Vergr. 1270.
 Fig. 81. Desgl. Junges Amöboidstadium. Vergr. 1270.
 Fig. 82. *Mastigina setosa*. Ganz junges Tier. Bildung der Sporetien. In B ganzes Tier. Vergr. 1270. In A der Kern stärker vergrößert.
 Fig. 83. Desgl. Junges Tier vor der Sporetienbildung. Vergr. 1270.
 Fig. 84. Desgl. Älteres mit stachelförmigen Pseudopodien. Vergr. 1270.
 Fig. 85. Desgl. Mit fingerförmigen Pseudopodien und kompaktem Sporetienhaufen. Vergr. 1270.
 Fig. 86. Desgl. Jüngeres Tier mit Sporetienhaufen. Vergr. 1270.
 Fig. 87. Desgl. Junges Tier in *Mastigina*-Form. Vergr. 1270.
 Fig. 88. Desgl. Junges Tier mit Borsten versehen. Vergr. 1270.
 Fig. 89. Desgl. Bildung der Gametenkerne aus diffusen Sporetien. Vergr. 1270.

*Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

Observations on the Protozoa in the Intestine of Mice.

By

C. M. Wenyon, M.B., B.S., B.Sc.,
Protozoologist, London School of Tropical Medicine.

(With plates X—XII and 1 text figures.)

These observations were commenced on mice which I was using for experimental purposes at the Pasteur Institute, Paris, at the beginning of last year. The study of these Protozoa was continued in the laboratories of Prof. RICHARD HERTWIG in the Zoological Institute of Munich. I should like to take this opportunity of acknowledging my great indebtedness to Prof. HERTWIG for the help and advice he has so willingly given me.

In studying the Protozoa living in the intestine, one is struck by the varying degree to which they have become adapted to their host. All steps in the process of adaptation are found from forms which only live occasionally in the intestine to forms, like the coccidia, which are very specially adapted to a particular form of existence.

There are forms like the amoebae described below, which live and multiply outside the body. Their cysts pass through the intestine of mice and occasionally the amoebae escape and multiply in the rectum. This may be taken as the first step towards parasitism. In the case of the flagellate *Hexamitus*, it is found frequently in all parts of the intestine, but it can also live and multiply outside the body in decomposing material. *Trichomonas* exhibits a higher grade of adaptation. Its favourite habitat is the

caecum, where it lives and reproduces. Large numbers of *Trichomonas* escape from the body and these may retain their vitality for many days in a contracted condition, though it is doubtful if they can live and multiply like the *Hexamitus*. In this contracted condition *Trichomonas* may be taken in by other animals and become active again in the month and find its way to the caecum. The *Amoeba muris* and *Lambli*a have lost the power of existing outside the body of their host except in the encysted condition, and this leads up to highly specialised parasites like the coccidia, which live in the epithelial cells of the intestine.

In a series like this it is difficult to say where true parasitism begins. The flagellates and amoebae have, apparently, not the least ill effect upon their host and they live more as commensals than parasites. This applies more especially to the forms living in the large intestine, since their existence is probably dependent on the bacterial flora of this part of the alimentary canal. Forms living in the small intestine, as *Lambli*a, nourish themselves exclusively by absorbing the fluid constituents of the food, while those that live in the caecum, *Amoeba muris*, *Trichomonas*, *Hexamitus*, take in solid food also.

Under their respective headings below, will be found the observations upon these Protozoa. The *Amoeba* which is described as occurring sometimes in the rectum is left unnamed, as it may be already described in other associations. The same remark would apply to the form of *Hexamitus* inhabiting the caecum.

Amoeba muris GRASSI.

This Amoeba was first described by GRASSI as occurring in small numbers in the intestine of mice and rats. According to my observations it is present in about half the mice examined, and, though, as a rule, present in small numbers, this is not always the case. Rarely is there a very large infection. In two mice the amoebae were present to such an extent that 100 or more could be found in each cover-glass preparation of the contents of the caecum.

These amoebae live in greatest numbers in the caecum. They occur to a less extent in the upper parts of the large intestine, and are never found above the caecum. In the ordinary course of events the free amoebae do not escape from the body of the mice, but, in diarrhoea, free forms may be found in the faeces. In normal faeces only encysted forms occur.

In the caecum the amoebae live free amongst the caecal contents and also upon the epithelial surface. They may even enter the glands and make their way to the remotest extensions of these. There is never any indication of their being able to penetrate the epithelium. The amoebae live in the company of *Trichomonas*, *Hexamitus*, numerous bacteria, yeast cells and spirochaetes.

Description of living amoebae.

When examined in the living condition this amoeba bears a very striking resemblance to *Entamoeba coli* (*Amoeba coli*), which lives in the human intestine. This resemblance was noted by GRASSI, who found, however, the amoeba of the mouse to be much smaller. He gave $13.2\ \mu$ as the diameter of the largest forms. This is too low an estimate, as I have seen forms measuring from $30\text{--}40\ \mu$.

There is a narrow ectoplasmic layer, clear and quite transparent and only distinctly visible in the formation of the pseudopodia. The ectoplasmic layer surrounds a more liquid and granular endoplasm, in which are situated the nucleus and food vacuoles. Within the vacuoles may be included anything that is present in the caecum — bacteria, bacilli and cocci, *Trichomonas*, *Lambli*a, *Hexamitus* and their cysts and yeast cells. Sometimes, in cases of coccidiosis where epithelial cells are cast off, these epithelial cells are taken in by the amoebae. A very striking picture is obtained where a large amoeba possesses a single vacuole containing actively swimming *Trichomonas*. The vacuole may be so large as to reduce the amoeba to a mere sac on one side of which is the nucleus. At first sight, these forms strike the observer as being cysts full of active flagellates (Pl. XII fig. 1). What is the fate of such an amoeba has not been determined. Similar large vacuoles are occasionally seen containing a large coccus (Pl. XII fig. 2). The presence of so many cocci of one kind in a single vacuole, and all apparently in a healthy condition without any sign of being digested, seems to suggest that the cocci have multiplied after having been taken in by the amoeba. The coccns in such a case would be a form of parasite and would lead ultimately to the death of the amoeba.

In the living animal the nucleus is distinctly visible. It lies in the endoplasm as a clear vesicle, over the surface of which are distributed bright refractile granules. In the interior of this nucleus very frequently can be distinguished a definite nucleolus.

The movements of *Amoeba muris* were stated by GRASSI to be slow. This is, however, only correct when they are examined in the

cold. On the warm stage the amoebae are active and in their rate of movement and mode of forming pseudopodia resemble very strikingly *Entamoeba coli*. As a rule, only one pseudopodium is formed at one time. This consists at first only of ectoplasm (Pl. X fig. 3) into which the endoplasm suddenly streams, carrying the nucleus with it.

Cultivation.

All attempts at cultivating this amoeba outside the body have been met by failure. Both in aerobic and anaerobic culture the medium¹⁾ recommended by MUSGRAVE and CLEGG for the culture of *Entamoeba coli*, has given negative results. By smearing faeces on the surface of their agar in Petri dishes cultures of amoebae can occasionally be obtained, but these amoebae are never *Amoeba muris*, but a distinct amoeba which is described under another head below. I have also been able to cultivate amoebae from the intestine of a guinea pig and also from a human intestine in which *Entamoeba coli* was present. In this latter case, the amoebae resembled those I have cultivated from the faeces of mice and were not *Entamoeba coli*. SCHAUDINN has described the life cycle of *Chlamydomorphys stercorea*, which lives outside the body but there forms cysts which have to pass through an intestine, human or animal, before the enclosed amoebae escape. It is probable that there are other forms of amoebae which pass through the intestine in the encysted condition and faeces containing such cysts would give a culture of amoebae, if brought upon a suitable medium. If contents of the caecum of the mouse in which *Amoeba muris* is present be sealed up from contact with air without admixture with any other liquid, it will be found that the amoebae live only a few hours, even when kept at the temperature of the body. In the light of these facts it must be very doubtful if it would be possible to cultivate an organism like *Amoeba muris*. The same remark would apply to *Entamoeba coli*, as in the experiments of MUSGRAVE and CLEGG no steps were taken to exclude the presence of other amoebic cysts. Further, the figures and descriptions of amoebae and cysts given by these workers suggest the amoebae I have cultivated and in no way the *Entamoeba coli*.

¹⁾ The medium is made as follows: — 20 grams Agar, 0.3—0.5 grams Sodium Chloride and 0.3—0.5 grams Extract of Beef (Liebig) are dissolved by heating in 1 litre of water. This solution is then titrated and made 1—5 per cent alkaline to phenolphthalein. The final reaction after autoclaving, distribution in tubes and sterilising will be about 1 per cent alkaline to phenolphthalein.

Description of fixed and stained amoebae.

For fixing, sublimate alcohol (sat. aq. subl. 2 alcoh. 1) as recommended by SCHAUDINN was mostly used. Chromosmium fixative also gave good results. The preparations were stained in Iron Hematoxylin of HEIDENHAIN, DELAFIELD'S Hematoxylin and Borax carmine.

In amoebae prepared in this way the same two layers of the body can be made out (Pl. X fig. 1—4). The ectoplasm is difficult to distinguish except in pseudopodial formation. The endoplasm is granular and may contain vacuoles or not and, in forms with a pseudopodium, is in marked contrast to the clear and transparent ectoplasm. The nucleus is spherical. It has a definite and fairly thick nuclear membrane. Within the nuclear membrane may be distinguished an achromatic network or alveolar structure. Over the surface of the nuclear membrane the greater part of the somewhat scanty chromatin is scattered in granules of varying size. Some finer granules are distributed over the network within the membrane and at one point of the network is the nucleolus in which, also chromatin is situated. There may be two nucleoli in the nucleus and this condition may be the first stage in nuclear division. Very frequently the chromatin is condensed into clumps at one or two points of the nuclear membrane (Pl. X fig. 37b). In specimens stained with Borax Carmine and differentiated in acid alcohol these clumps of chromatin resemble certain darkly staining masses which lie around the nucleus in certain instances. It is probable that these clumps of chromatin are thrown off from the nucleus and either disintegrate in the plasma or are thrown out of the amoeba. This may be a preparation for encysting or may occur at any stage when there is a superfluity of chromatin in the nucleus. The nucleus of this amoeba at all stages is marked by its poorness in chromatin. Very often the reaction to chromatin stains is little, if at all, more intense than the protoplasm of the amoeba.

The type of nucleus here described for *Amoeba muris* corresponds exactly with the nucleus described by SCHAUDINN for *Entamoeba coli*.

Reproduction.

Multiplication of this amoeba is by division and encysting. I have not been able to find any stages of schizogony as described by SCHAUDINN for *Entamoeba coli*, in which there is a division of the

nuc lens into 8 smaller nuclei, followed by a division of the amoeba into 8 smaller amoebae.

Multiplication by division.

In simple division the nucleus divides by a form of mitosis. In the earliest stages there is seen within the nuclear membrane a small spindle (Pl. X fig. 37c). At either pole of the spindle is a more darkly staining area. Achromatic fibres extend between the two poles, and arranged upon these fibres in a longitudinal manner are the chromatin granules which have left their position upon the nuclear membrane. Surrounding the spindle at this stage can still be seen some of the achromatic nuclear network, while enclosing the whole is the nuclear membrane which is deprived of all its chromatin. There does not seem to be a formation of definite chromosomes or of an equatorial plate as occurs in the amoeba described below.

At a later stage (Pl. X fig. 5 and 37d) the spindle is longer and is narrower at the middle. The same two darkly staining areas at either pole can be distinguished. The chromatin is becoming separated irregularly into two parts. The nuclear membrane is lying round the spindle. In later stages the constriction in the middle becomes more marked and the nucleus is divided into two smaller nuclei (Pl. X fig. 2). The division of the protoplasm does not follow immediately upon division of the nucleus. Free amoebae with two nuclei are frequently found and these may be watched upon the warm stage for some time without any signs of division. If this division of the protoplasm was longer delayed the nuclei might divide again and so produce a form of schizogony as described by SCHAUDINN for *Entamoeba coli*.

Multiplication by encysting.

Encysting of this amoeba for sexual reproduction and escape from the body of its host takes place in the caecum. As a general rule it is possible to find only a few cysts at any one time in the voided faeces of infected mice. These cysts as they escape from the mice are spherical or slightly oval and contain eight nuclei (Pl. X figs. 33—35). By killing the mice and examining the contents of the caecum and large intestine cysts in other stages of development can be found. Usually these cysts are scarce, but on two occasions they have been present in large numbers. It is prob-

able that in the normal course of events only a few of the amoebae are encysting at one time, but that when the contents of the caecum become unsuitable for the existence of the amoebae then large numbers of the amoebae encyst. On such occasions there is abundance of material and conditions are very favourable for the study of these stages.

Encysting as seen in living amoebae.

Amoebae about to encyst are distinguished by having an endoplasm cleared of all large inclusion products. Even at the beginning of encystment there may still be present granules of food material and bacteria. The cyst in its early stages is soft and gelatinous and the remains of the food material are thrown out of the body of the amoeba, apparently passing through the soft gelatinous wall. Only one amoeba is contained in each cyst. Three stages in the encysting of an amoeba kept under observation in the warm microscope chamber are shown in Pl. XII figs. 3, 4 and 5. In fig. 3 the animal is irregularly oval. It is surrounded by the soft gelatinous cyst and the protoplasm contains numerous food particles. Later on, the food particles were thrown out of the cyst (figs. 3 and 4) and at the same time the cyst becomes more spherical.

Fig. 5 is a later stage where the amoeba is within a spherical cyst. The protoplasm is cleared of all inclusions and lying on one side is the granular nucleus. The centre of the cyst is occupied by a large refractile body to be described below.

There are two types of cysts, one type in which there is present the refractile body just mentioned and a second type where this body is wanting. The subsequent development of the cyst is somewhat altered if this body is present. The centre of the cyst being occupied by this body, the result is that the nucleus is pushed to one side and the nuclear divisions have to take place in the limited space of the narrow layer of protoplasm. This also causes the development to proceed more slowly.

The presence of this refractile body seems to depend on the rate of encysting. If the amoebae encyst rapidly, probably owing to some sudden alteration in the intestinal contents, the large proportion of cysts contain this body. This seems to indicate that it is of the nature of food products which have not been thrown out of the animal. All intermediate forms exist between those which do not possess this refractile body and those which have it well

developed. Later on in the development, this refractile body becomes irregular in shape and breaks up into separate fragments.

The cysts of the amoeba are spherical or slightly oval. When the refractile body is present there may be more irregularity and forms as in text fig. 6 are sometimes seen.

The diameter of the cysts is about 12–14 μ but, exceptionally, smaller or longer cysts occur.

After the extrusion of food material and the formation of the cyst, the single nucleus divides by a process of simple division. The result of this division is a cyst with two nuclei and the majority of cysts found in the caecum are in this stage.

These cysts may be examined on the warm stage or in the warm microscope chamber and, under favourable conditions, which unfortunately are rare, the subsequent steps in their development may be followed.

Pl. XII figs. 7–17 are drawings of a cyst kept under observation during 4 hours in the warm microscope chamber. When this cyst first came under observation it had already undergone a part of its development. The single nucleus had divided and the process of maturation had taken place. These steps I have not followed in the living cyst but they will be described below in fixed and stained preparations. In the process of maturation each of the two nuclei gives up a great part of its chromatin to the protoplasm and also forms two reduction bodies. In Pl. XII fig. 7 is seen a cyst in which this has already taken place. There are two nuclei lying at opposite sides of the cyst, while the central portion of the cyst is occupied by the large refractile body. In one nucleus, the chromatin is evenly distributed, while, in the other, part of it is concentrated at one end. The refractile body was constantly changing in shape owing to the contractions of the surrounding protoplasm. The next stage in the development of this cyst was the migration of the nucleus with the irregularly distributed chromatin towards the other (Pl. XII figs. 8, 9, 10). At the same time chromatin began to concentrate at one end of the stationary nucleus. Apart from the earlier concentration of the chromatin in one nucleus and its migration, the two nuclei are quite similar. It might be suggested that the moving nucleus represented the male element, while the stationary nucleus was the female. The two nuclei now remained side by side for about $1\frac{1}{2}$ hours. During this time the chromatin which had concentrated at the ends of the nuclei was thrown out and collected in granules in the protoplasm (Pl. XII figs. 11, 12). The

nuclei at the same time became smaller in size and less distinct. There was no sign of the two nuclei fusing. After the expiration of about $1\frac{1}{2}$ hours each nucleus began to elongate as a refractile clear band which finally reached from one side of the cyst to the other (Pl. XII figs. 13, 14). These two bands were parallel and slightly curved, owing to the presence of the refractile body round which they passed. These two bands were spindles for the division of the two nuclei. The result of this division was four nuclei which lay in pairs at opposite sides of the cyst. The two nuclei of each pair then apparently fused, producing again a cyst with two nuclei. These two nuclei then began to increase in size and almost immediately divided to form four nuclei. Pl. XII fig. 15 shows the cyst with one of the conjugated nuclei already divided while the other is in process of division. The granules of chromatin which were thrown out of the nuclei are still seen in the protoplasm. The duration of the spindle formation and conjugation was at most only 10 minutes, and this explains the difficulty of finding these stages in fixed preparations. The four nuclei resulting from the first division after conjugation rapidly grow in size (Pl. XII fig. 16). At this stage the refractile body becomes irregular in shape and shows signs of breaking up. The development of this cyst was not followed any further, but the later stages were observed in other cysts.

In Pl. XII figs. 18–21 are represented four stages in the development of another cyst. In the first stage there are 4 nuclei with a refractile body. The nuclei finally divided to form 8, while the refractile body is becoming very irregular.

In Pl. XII figs. 22 and 23 are seen two stages in the development of a cyst which was left in the warm microscope chamber over night. In fig. 22 there is a spherical cyst with two nuclei and a refractile body, while in fig. 23 the development is completed. There are now 8 nuclei and the refractile body has broken up and is represented by several shrivelled fragments.

Description of cysts in fixed and stained preparations.

For the study of the cysts the same methods of fixing and staining were used as for the free amoebae. The first stage in the process is shown in Pl. X figs. 6–9. In figs. 6 and 9 there is present the refractile body. The nucleus in these cases is large and contains a relatively large quantity of chromatin. This nucleus then divides by a process of simple division (Pl. X figs. 10, 11). The

first nuclear division takes place very soon after the formation of the cyst. The stage with two nuclei is one of long duration and in this stage the nuclei are reduced in size by a throwing out of chromatin. The chromatin passes out of the nuclei into the protoplasm causing the latter to stain very deeply, especially around the two nuclei, which themselves stain only faintly (Pl. X figs. 12 and 14). The chromatin is then either dissolved in the protoplasm or is thrown out of the cyst. Sometimes even at this stage remains of food products are still within the cyst. They are thrown out of the cyst also (Pl. X figs. 13, 20). This loss of chromatin reduces the nuclei to a much smaller size, while in some cases there appear to be no definite nuclei remaining, but only granules of chromatin in the protoplasm (Pl. X figs. 17—20). It may be that in these cases there is a complete destruction of the nuclei followed by their reformation from the chromatin in the protoplasm, as has been described by SCHAUDINN for *Entamoeba coli*. As these stages of *Amoeba muris* have not been followed in the living cyst and as a sufficient number of cysts showing this chromatin reduction have not been examined, a definite statement as to the dissolution and reformation of the nuclei cannot be made. It is, however, quite clear that a great part of the chromatin is thrown out of the nuclei. After this loss of chromatin the nuclei undergo a further reduction in the formation of reduction bodies. Each nucleus gives off two reduction bodies which are ultimately dissolved in the protoplasm or remain as darkly staining granules (Pl. X fig. 21).

The division of the one nucleus of the encysted amoeba and the following loss of chromatin and formation of reduction bodies I have unfortunately not been able to follow in the living cyst. All stages prior to the division of the one nucleus and stages after the formation of the reduction bodies I have followed in the living cyst as described above. There is considerable difficulty in keeping the cysts alive and as the stages I have failed to observe are of long duration this is easily explained. However, I have been able to examine a large number of fixed and stained cysts in this precise stage, so the steps in the development could be followed.

After the chromatin reduction, both by throwing out of chromatin from the nuclei and formation of reduction bodies, there remain two smaller nuclei in the cyst. The two nuclei then come together as described above for the living cyst and at the same time they give up more chromatin as a final preparation for spindle formation and conjugation. In Pl. X fig. 22 is shown such a cyst with two

nuclei lying close to one another and surrounded by a more darkly staining protoplasm due, probably, to the chromatin which has passed into the plasma. The next step is the formation of the spindles and division of the nuclei. This stage is seen in Pl. X fig. 23 a preparation stained with DELAFIELD'S Hematoxylin. There are two spindles passing from the point where the two nuclei lay side by side, round the refractile body. The darkly staining masses in the cyst are probably food material or broken off fragments of the refractile body. Some of these masses probably represent chromatin material. At either end of each spindle is a darkly staining cap. The granules of chromatin are arranged longitudinally along the fibres. As in the nuclear division, in the free amoebae there is no formation of chromosomes. The result of this nuclear division is two pairs of nuclei lying at opposite poles of the cyst. These nuclei then conjugate, giving a stage represented in Pl. X fig. 24. The nuclei resulting from conjugation have already increased in size and are preparing for the next division (Pl. X fig. 25, 26, 27, 28). The division of the four nuclei to form eight is in progress in Pl. X fig. 29 and 32, and is complete in Pl. X figs. 33—35. All these nuclear divisions are simple constrictions of the nuclei into two equal parts. The only spindles formed are those which give rise to the conjugating nuclei. The divisions of the nuclei take place at one time within the cyst. In the last division, for instance, all four nuclei divide together. In Pl. X fig. 30 is a cyst with only three nuclei where one nucleus has not divided, but such an irregularity is the exception. After the conjugation of the nuclei the refractile body breaks up. This may take place soon after conjugation or it may be delayed till after the formation of the eight nuclei. The refractile body stains feebly and shows a coarse reticular structure. When it breaks up, the separate parts shrink to form masses which stain deeply with Iron Hematoxylin and DELAFIELD'S Hematoxylin. These masses can be distinguished from chromatin by not staining with borax carmine after differentiation in acid alcohol.

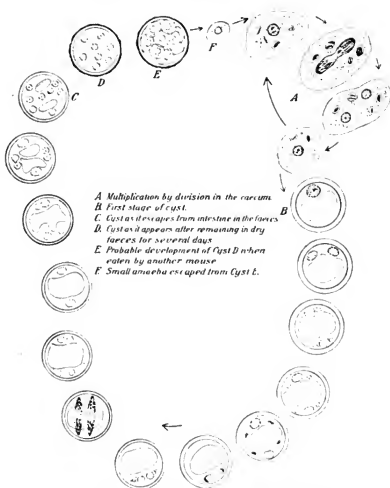
In the process of development the soft and gelatinous cyst wall becomes tough and resistant. At the same time there is formed within the cyst a second membrane which is well shown in Pl. X fig. 36, where the inner membrane has separated from the outer.

As stated above, it is the cysts which eight nuclei which escape from the intestine in the faeces. Such cysts remain without further development. The outer cyst wall becomes tough and irregular (Pl. XII fig. 24).

I have not been able to follow the division of the protoplasm within the cyst nor the escape of the amoebae which must presumably take place in the intestine of mice after their ingestion as is the case with *Entamoeba coli*. One experiment is worth recording, though not absolutely conclusive. A mouse, which showed no amoeba cysts in its faeces after repeated examination, was fed upon cysts from another mouse. This mouse after 3—4 weeks was passing large numbers of cysts in its faeces.

It is probable that in the mouse there is a stage of active multiplication of the amoebae and that the formation of the sexual cysts does not occur till later in the infection, as is true in coccidiosis.

The whole of this cycle of development bears a marked resemblance to the development of *Entamoeba coli* (*Amoeba coli*) described by SCHAUDINN. SCHAUDINN, unfortunately, has given no figures and one has to rely on a verbal description. He describes the cysts of *Entamoeba coli* as containing a single amoeba with protoplasm divided into an outer and denser layer containing the nucleus and an inner more liquid portion. The inner portion probably corresponds to what has been described as the refractile body in the cysts of *Amoeba muris*. After the division of the nucleus there ensues a throwing out of chromatin from the two nuclei. SCHAUDINN there says that the remains of the nuclei are finally thrown out of the cyst, while another two nuclei are reconstructed from the chromatin in the protoplasm. As I have not followed these stages in the living cyst as SCHAUDINN did for *Entamoeba coli*, it is difficult to form an opinion on the resemblances or differences of these stages of the two amoebae. However, in *Entamoeba coli* this process it not invariable, as SCHAUDINN gives several alternative courses of development at this stage. The formation of reduction bodies and the development of eight nuclei correspond in the two cases. When we take into account the striking similarity of these two amoebae, both in the free condition and in their encysting process, it is difficult to avoid the conclusion that they are identical. The *Entamoeba coli* of the human intestine is a harmless parasite as is the *Amoeba muris* in the mouse and rat. SCHAUDINN found *Entamoeba coli* present in a large percentage of normal and healthy individuals and it is quite conceivable, if not probable, that many of these intestinal Protozoa *Amoeba*, *Lambli*a, *Trichomonas* and *Hexamitus*, which are more commensals than parasites, may lead a harmless existence in the intestine of warm blooded animals of various kinds.

Diagram representing cycle of development of *Amoeba muris*.***Amoeba* sp.**

This amoeba, which is quite distinct from *Amoeba muris*, is found occasionally in the faeces of mice suffering from diarrhoea. In normal faeces the free amoebae are never found, but only their cysts. If faeces containing these cysts be kept moist for a few days, the free amoebae will escape from the cysts and commence multiplying

rapidly in the faeces. It is quite easy to cultivate these amoebae on the alkaline agar recommended by MUSGRAVE and CLEGG. A little of the faeces smeared on the surface of the agar in a Petri dish will give a rich culture in two or three days, even at the ordinary temperature of the laboratory. The reproduction is still more rapid at a temperature of 25°—30° C. The bearing of this amoeba on the supposed cultivation of *Amoeba coli* has been considered above.

In the free state (Pl. XII figs. 25—30) this amoeba is characterised by having a distinct ectoplasm, which is quite clear and transparent and surrounds the liquid and granular endoplasm. The endoplasm contains the single nucleus and food vacuoles. There is no contractile vacuole. In some forms the endoplasm is full of small refractile granules of uniform size (Pl. XII figs. 25, 27). The movements of the amoeba are slow. There may be several pseudopodia formed at one time or only a single one. The pseudopodia are lobose and may be branched and they appear to be formed only of ectoplasm. Single long pseudopodia are formed, giving the amoeba an appearance as in Pl. XII figs. 26, 27. At other times a broad pseudopodium extends out from the body of the animal as a clear sheet of ectoplasm (Pl. XII fig. 28).

This amoeba multiplies by simple division, the nucleus first dividing by a form of mitosis. In the living animal little of the nuclear division can be seen, the spindle there appearing as a bright streak across the dividing animal. In fixed and stained preparations, the various steps in the nuclear division can easily be followed. The best pictures are given in specimens fixed in sublimate alcohol and stained with iron hematoxylin. Very good results are also obtained by fixing in chromosminm fixative and staining with borax carmine.

The resting nucleus is roughly spherical (Pl. X fig. 38). There is a definite nuclear membrane which is thin and devoid of chromatin. In the centre of the nucleus is a large deeply staining spherical mass. This is the nucleolus, over the surface of which all the chromatin of the nucleus is distributed. The space between the nuclear membrane and nucleolus is filled up by an achromatic network.

The first noticeable sign of division is a breaking up of the chromatin into smaller granules (Pl. X figs. 39, 40). Four is a very usual number for these granules, but more than this may occur. These granules arrange themselves at the equator of the nucleus

as an equatorial plate. In the side view, this plate appears as a dark line of granules across one diagonal of the nucleus, while on each side of this line is a band of substance which stains a little more deeply than the rest of the nuclear contents (Pl. X figs. 41, 42). Fig. 41 represents the equatorial plate as seen from above. The equatorial plate then splits into two halves which move away from one another. There is probably here a splitting of the chromatin granules. A stage depicted in Pl. X figs. 43, 44, 45 is reached. There are two chromatin plates connected by fibres, while similar fibres extend from the two plates to the nuclear membrane. In fig. 45, the spindle is seen obliquely, while the four chromatin granules chromosomes in each plate are distinctly visible. At this stage the nuclear membrane is slightly elongated, while, stretched across its long axis, is the spindle, which is narrower than the transverse diameter of the nucleus. This leaves a considerable space around the spindle. As the spindle increases in length the two plates of chromatin separate and, at the same time, the transverse diameter across the nuclear membrane becomes reduced till it is about equal to that of the chromatin plates at the poles of the spindle (Pl. X figs. 46---49). During this elongation of the spindle the fibres stretching between the chromatin plates are replaced by a central spindle fibre, which is formed, as it were, by a fusion of these fibres. Towards its ends, the central spindle fibre opens out into a coneshaped structure which extends to the chromatin plates (Pl. X figs. 47, 49). At either extremity of the spindle is a hemispherical structure which fills up the cap-like ends of the elongated nuclear membrane. The whole spindle finally becomes much elongated and resembles the spindles of micronuclear division in infusoria. At this stage the transverse diameter at the middle of the spindle may be less than at either end. The amoeba then splits into two, the spindle dividing with it (Pl. X fig. 50). The nuclei of the resulting amoebae are formed by a fusion of the chromatin granules to the mass characteristic of the resting nucleus, while the remains of the spindle disappear.

The whole of this chromatin division and spindle formation takes place within the nuclear membrane, as is the case with the division of the nucleus in *Amoeba muris*, though in the two cases the spindles are different. The process resembles very closely the division of the micronuclei of infusoria, especially of *Paramecium* as described by RICHARD HERTWIG. DANGEARD has described a somewhat similar process in *Amoeba hyalina*. In this latter case no

central spindle fibre is mentioned, but the formation of the chromosomes and their arrangement in the equatorial plate is similar in the two cases. In *Amoeba binucleata* there is also an intranuclear spindle formation as described by SCHAUDINN. In this case, however, there is a concentration of protoplasm around the poles of the nucleus as it occurs in the nuclear divisions of *Actinosphaerium eichhorni* (R. HERTWIG).

The form of nuclear division found in this amoeba with its intranuclear spindle leads up to such forms as occur in *Amoeba binucleata* and *Actinosphaerium eichhorni* with their concentration of protoplasm round the poles of the nucleus.

The cysts of this amoeba are found in the faeces of mice and are formed in large numbers in the cultures. They have a diameter of from 7—14 μ , are spherical and of a light brownish colour. The cyst wall is quite smooth or very slightly irregular on its outer surface. Such a cyst is represented in Pl. X fig. 51. The cyst is completely filled by a single mass of protoplasm containing the nucleus, which resembles the nucleus of the free amoeba. Mice fed upon these cysts do not develop amoebae in their faeces. The cysts pass unharmed through the intestine and, if brought into suitable conditions, the amoebae will escape. Exceptionally, when the mice are suffering from diarrhoea, the amoebae may leave the cysts while still in the large intestine and there multiply. This resembles the passage of the cysts of *Chlamydomphrys stercorea* through the intestine. In this case also the *Chlamydomphrys* may leave its cyst and multiply in the rectum.

Trichomonas intestinalis.

This flagellate is often present in very large numbers in the caecum. It occurs above the caecum in the lower parts of the small intestine to a much smaller extent. It is also found in the large intestine and large numbers of *Trichomonas* escape from the body in the faeces not contained in any cyst but contracted to a spherical form.

The characters of the living animal have been very well figured by KUNSTLER. KUNSTLER's figures often show more than three flagellae at the anterior end. This is never the case but the actual number three is difficult to make out except in fixed and stained preparations. *Trichomonas intestinalis* was again described by LAVERAN and MESNIL, who figured most of the points in the anatomy of this complicated flagellate.

A marked feature of this flagellate is the ease with which it becomes deformed when removed from the caecum and examined on a slide. This consists in a breaking loose of the margin of the undulating membrane, which then lashes about as a long flagellum attached to the anterior end of the animal. The animal also changes its shape and performs amoeboid movements. This tendency to change of body form applies more especially to the larger forms of *Trichomonas*.

A point that has not hitherto been noticed is the great variation in size. Large forms $20\ \mu$ in length are found and all intermediate sizes down to $3\ \mu$, so that differences in size are not sufficient to distinguish different species of *Trichomonas*. In Pl. XI figs. 15, 16, 17, 20 are represented some of the smaller forms of *Trichomonas* about $5\ \mu$ in length.

The general shape of the animal is well known (Pl. XII fig. 31). It is pear shaped with three flagellae springing from the blunt end and an undulating membrane with thickened border passing in a spiral manner round the body and terminating in a free flagellum. Projecting from the posterior end of the animal is a spine (Pl. XI fig. 1) which is the termination of a structure which passes through the body of the animal towards the nucleus. This is in all probability an organ of temporary fixation. GRASSI compared this organ to the axial filament of spermatozoa. LAVERAN and MESNIL describe it as the "baguette interne". These last workers figure its continuation through the body up to the blepharoplast. It is connected in some way with this organ but even in fixed and stained preparations it is difficult to make out clearly this connection. In the region of the nucleus it becomes less distinct but a row of granules are often seen in continuous series along one or other side of this organ and they may be traced round the nucleus to the blepharoplast (Pl. XI figs. 1, 3). This organ is fairly firm, but bends slightly with the movements of the animal. It does not stain with nuclear stains like other parts of the flagellar apparatus presently to be described. In the living animal it appears as a refractile rod.

Running round the body on one side of the undulating membrane and following it in a spiral manner, is a shallow groove. This groove extends to the anterior or blunt end of the animal and often appears as a small fissure in this region (Pl. XI figs. 1, 9, 14, Pl. XII fig. 31).

The nuclear structure is best made out in specimens stained with DELAFIELD'S hematoxylin. The nucleus is oval and has a thin

nuclear membrane. In the resting condition the chromatin is distributed in the form of granules through the nucleus (Pl. XI fig. 8). Very frequently, lying against the nucleus is a small vacuole, while in forms in process of division and possessing two nuclei two such vacuoles may be present, one against each nucleus (Pl. XI figs. 11, 13, 14).

The blepharoplast consists of a darkly staining mass which can often be made out as two closely lying granules. From the anterior of the two granules arise the three flagellae and the thickened border of the undulating membrane. From the other granule arises the stiff rod like structure described by LAVERAN and MESNIL and which serves as a support for the undulating membrane. This rod like body is quite firm and rigid, and is the most resistant part of the animal. In deformed specimens it may be seen projecting from the body as a stiff rod with its shape still retained. When the animals die and break up, this rod remains for some time recognisable in its original form. Sometimes, other fibres may be seen in the undulating membrane. These have been figured by LAVERAN and MESNIL and they serve as additional supports. A marked feature in the structure of the animal is a row of granules which lie parallel to the stiff supporting structure of the undulating membrane. These granules, which are best demonstrated by staining with iron hematoxylin, commence in the neighbourhood of the blepharoplast. They are uniform in size and are lost at the posterior end of the animal (Pl. XI figs. 1, 3, 4, 21). The whole of the region around the nucleus is very granular. All these granules, together with the thickened border of the undulating membrane and its rod like support which are connected with the blepharoplast, stain very intensely with nuclear stains and are probably chromatin in nature. This chromatin has to do with the complicated flagellar apparatus, and is chromatin set apart to control the motor functions of the cell. In the division of the animal we shall see that the nucleus divides independently of the flagellar apparatus and there, thus, appears to be a fairly sharp distinction between the chromatin of the nucleus and that of the flagellar apparatus, the chromidium. Whether the chromatin of the flagellar apparatus is being constantly supplied with chromatin from the nucleus, or whether the chromatin of the nucleus represents the sexual chromatin which is distinct from the chromatin of the flagellar apparatus, the trophochromatin, as maintained by SCHAUDINN and GOLDSCHMIDT, cannot be definitely stated till more is known of the origin of the two forms of chromatin present in this complicated flagellate.

Occasionally within the body of the *Trichomonas* are large vacuoles containing a large coccus. Similar vacuoles have been described above in *Amoeba muris* and they may be so large as to reduce the *Trichomonas* to a mere sac. As suggested for the amoeba, this may be a form of parasitism (Pl. XII fig. 32).

Multiplication of *Trichomonas intestinalis*.

Trichomonas intestinalis divides by longitudinal division. There is a division of nucleus, blepharoplast and of the peculiar pointed organ which projects from the posterior end of the animal. The undulating membrane and its support with the flagellae appear to be new formations.

The first step in the process is a division of nucleus and blepharoplast. The granules of chromatin in the nucleus run together to form larger masses. The number of these chromatin masses or chromosomes is usually six (Pl. XI fig. 10). The chromosomes, at first irregular, then become dumbbell shaped and each divides into two (Pl. XI figs. 2, 5, 6, 7, 12, 14). A constriction then appears in the nuclear membrane and the nucleus divides, each daughter nucleus apparently having one half of the divided chromosomes. In this process there is no indication of an intranuclear division centre as is found in *Euglena* and no definite spindle is formed. The chromosome formation is well developed, though other parts of the spindle apparatus are absent. After division of the nucleus, the large chromatin granules break up into the smaller granules characteristic of the resting nucleus.

As a rule the blepharoplast divides before the nucleus. It consists, as pointed out above, of two closely related granules. In division, each of these granules divides and the two pairs of granules so formed move away from one another. A fibre can often be seen extending between the two pairs of granules even after considerable separation has taken place (Pl. XI figs. 2, 4, 10, 11). Soon after division of the blepharoplast and frequently before division is complete, the rod like body which is to serve for the support of the new undulating membrane can be seen attached to the divided-off half of the blepharoplast (Pl. XI figs. 5, 6, 7, 10). The first portion of this structure may be formed by a splitting off from the one already existing, but, however it may have originated, it increases in size as the division of the animal proceeds, probably by growing out from the blepharoplast. At first no second undulating membrane

can be distinguished, but this appears later and is probably a new formation like the flagellae. The undulating membrane and its supporting apparatus continue to increase in size till they equal the size of those already existing. The appearances suggest that, just as the rod like support increases in size by growing out from the posterior of the two granules which constitute the blepharoplast, so the thickened margin of the undulating membrane increases in a similar way by growing out from the anterior of the two granules. The staining reactions of the blepharoplast, the margin of the undulating membrane and its rod like support are identical, and it would appear that the two latter were prolongations, as it were, of the former.

After division of the nucleus and blepharoplast, there commences a division of the pointed organ. This divides by longitudinal division and is the last part of the animal to divide (Pl. XI fig. 3). In later stages, it is seen extending through the body of the long drawn out animal from the neighbourhood of one nucleus to that of the other (Pl. XI figs. 15, 21). In the final stage, two animals are attached simply by this organ, which finally gives way, leaving the characteristic pointed ends.

The multiplication of *Trichomonas* may take place very rapidly, with the result that increasingly small forms are produced. These small forms may be only $3\ \mu$ in length. At other times division proceeds less rapidly and only large forms of *Trichomonas* are present.

I have not been able to find any sexual stages of this parasite. SCHAUDINN mentions in a short note that *Trichomonas* becomes an amoeba and that two of these amoebae, after giving off each two reduction bodies, become encysted together and conjugate. Within the cyst there is then a division into several parts with the formation of a large residual body. Such stages I have not encountered in the mice.

In the normal way many *Trichomonas* escape from the intestine in the faeces. These forms are contracted and spherical. There usually appears to be no cyst enclosing them, but forms as in Pl. XI fig. 35 are met with which apparently have a cyst. In the faeces the spherical forms of *Trichomonas* will retain their vitality for a week or more, if prevented from drying. If a little of such faeces which have been kept moist at the ordinary laboratory temperature for a week be mixed with salt solution and examined on the warm stage, it will be noticed that in a quarter to half an hour the

spherical *Trichomonas* show signs of life. The undulating membrane moves very slowly and soon the whole animal begins to rotate. This movement increases till finally the *Trichomonas* commence to swim about as do the forms freshly taken from the caecum. This long survival of *Trichomonas* outside its host and the fact that no definite cysts are formed, as is the case with the amoebae and *Lambia*, suggest the possibility of a direct infection taking place. To test this point some of the faeces containing *Trichomonas* which had been kept moist for several days was mixed with the juice from the stomach of a freshly killed mouse. On the warm stage the *Trichomonas* revived and remained alive for four or five hours, a space of time quite long enough to allow of the *Trichomonas* passing through the stomach of a living mouse. It is thus quite possible that the infection may be spread by the ingestion of *Trichomonas* in the uncysted condition. The peculiar resistance of *Trichomonas intestinalis* and its long survival outside the body, shows that it has not become very specially adapted to a life in the intestine. It is known that *Trichomonas* in the human subject can live in many other parts of the body. PROWAZEK has described them from the cavity of a tooth; they live in the vagina, and have been found in the lung in suppurative conditions and even in the stomach. It is exceedingly doubtful if these are distinct species. From the figures given, it is impossible to judge of any differences. Much more probable is it, that the normal habitat of this flagellate is the intestine and, that under certain conditions which give a good bacterial growth, it may find its way from the intestine to the vagina, mouth, lung and so forth. It is, also, not at all improbable that the *Trichomonas* which live in the intestine of mice and other animals are one and the same species.

It is unusual to find a mouse which is not infected with *Trichomonas*. In quite healthy mice, the caecum will harbour enormous numbers and the flagellates appear to have not the least ill effect on their host. In mice suffering from diarrhoea from coccidiosis or other cause, the *Trichomonas* escape in large numbers in the faeces. Such appearances in the human subject have given rise to the idea that diarrhoea may be caused by these flagellates. It is very probable that in the normal human intestine *Trichomonas* and other Protozoa are present much more frequently than has hitherto been imagined, and, in case of diarrhoea, escape in the free living form. Flagellates in the human faeces have been most frequently encountered in cholera and similar diseases, where no one would think of suggesting the

flagellates as the cause of the diarrhoea. In other cases where no definite cause for the diarrhoea can be found, the presence of the flagellates has erroneously led to their being taken as the cause in question.

Lamblia intestinalis.

This flagellate occurs sometimes in very large numbers in the upper part of the small intestine. As regards the general appearance of the animal and its movements there is nothing to add to the excellent description of METZNER. In his investigations into the structure of *Lamblia* as occurring in the intestine of rabbits, METZNER did not use the iron hematoxylin method of staining which gives very good pictures of the nucleus and flagellar apparatus. Very good results are obtained by fixing with sublimate alcohol and staining with iron hematoxylin and eosine.

As found in the small intestine of the mice, the *Lamblia* vary in size. There is little difference in the size of the peristome or sucking disc in different animals, but the variation is due more to the thickness of the body. In the smaller forms the body is thin and leaf like (Pl. XI fig. 37), while in the large forms it is thick and approaches to an oval (Pl. XI fig. 38). The general structure of the animal is shown in Pl. XI figs. 36—38. There are two oval nuclei, each having a definite nuclear membrane. The greater part of the chromatin is concentrated to an irregular body at the centre of the nucleus, while smaller granules are distributed over the nuclear membrane. There appears to be no connection between the two nuclei, as has been described by METZNER and other workers. The point to which the three pairs of posterior flagellae converge stains deeply in darkly stained individuals, and this region between the nuclei which lodges a large part of the flagellar apparatus might be taken as a link between the two nuclei. The individuality of the two nuclei is clearly brought out in the encysting process.

Between the two nuclei are seen two darkly staining rods with expanded ends. Posteriorly, these rods are continuous with the prolongations into the body of the tail flagellae. Springing from the enlargements at the hinder end of the two rods, is the middle pair of flagellae; on each side of the anterior ends of the two rods is a small granule, from which arises the anterior pair of flagellae. These, before becoming free, cross one another and then pass up to the margin of the peristome, or sucking-disc, which is slightly raised from the surface of the body. The two flagellae then run along the surface

of the rim of the peristome for a short distance. During this part of their course they are attached to the margin of the peristome and form, as it were, a narrow membrane. The flagellae finally leave the peristome rim and become free. From the pair of granules which gave origin to the anterior flagellae just described, there may be traced backwards two fine fibres which run parallel to the two darkly staining rods as far as their posterior ends, when they diverge and are continuous with the margin of the peristome and with the second pair of lateral flagellae. In some individuals there is present a group of granules which extends from the anterior end of the nucleus towards the anterior ends of the two rods, while, at the posterior end, there appears to be some sort of connection between the nuclear membrane and the peristome margin, at the point where it turns inwards round the posterior end of the nucleus.

The area of the body behind the two nuclei, the triangular area of METZNER is depressed to form a kind of groove in which the middle pair of flagellae lie. This groove runs towards the tail, on which it is lost. At the bottom of this groove may be seen two very darkly staining bodies one on each side of the middle line. They appear to lie on the continuations of the tail flagellae into the body (Pl. XI fig. 36), but in reality they are more dorsally situated (Pl. XI figs. 37, 38). These bodies were described by METZNER. Their function is unknown, unless they are connected with certain fibres which may be seen in some of the living animals. These are fibres (Pl. XII fig. 33), which arise from refractile granules situated in the anterior region of the animal. The granules are present in about equal number on each side of the middle line, while, running from them are fine fibres which, converging in a fan like manner as they approach the tail, terminate in a refractile body which probably corresponds with the darkly staining body described above. These fibres are not always distinguishable and have not been observed in fixed specimens. Their function is probably connected with the movements of the tail.

Though very large numbers of *Lambliae* may be present in the small intestine and these of different sizes, dividing forms are not to be found. There are, however, large numbers of encysted forms especially in the lower parts of the small intestine and large intestine. The cysts are oval and measure about 13 or 14 μ by 6 or 7 μ . The cyst wall is smooth and transparent. These cysts have been observed by several workers, but their contents have not been clearly described. SCHAUDINN, in a short foot note, mentions cysts, in each of which two *Lambliae* fixed together by their

suckers, are encysted. These are apparently sexual cysts. In cysts that I have observed only one animal is present. These cysts are formed by one of the larger forms of *Lambliae* described above. In the early stages, the several parts of the animal may be seen within the cyst. The details of the cyst contents may be readily brought out by staining with iron hematoxylin (Pl. XI figs. 30—32). Soon after the formation of the cyst, the two nuclei move away from their central position and come to lie at the anterior end of the animal. Before this migration, each nucleus becomes spherical and in so doing gives up part of its chromatin. In many cases, it appears as if the posterior end of each nucleus is divided off from the rest and remains as a dark mass attached to the margin of the peristome at this spot.

In Pl. XI fig. 30 is figured a cyst with two spherical nuclei at one end. The two darkly staining rods can be seen and also the crossing of the two anterior flagellae. The two darkly staining bodies are still present and are a striking feature in all the cysts. Other parts of the flagellar apparatus may be seen and the dark masses which represent the divided-off posterior ends of the nuclei. These latter gradually break up and pass to the posterior end of the cyst, where they become no longer distinguishable. The next stage in the development of the cyst is the division of the two nuclei. Each nucleus has a nucleolus. This becomes drawn out and dumbbell shaped and finally divided into two. The division of the nuclei follows, giving four spherical nuclei. These four nuclei sometimes lie crowded together and suggest a possible conjugation, but this has not been observed. In this stage, the cysts escape in large numbers from the body. If kept outside the body in the faeces, the cysts become thick and opaque, so that little of their internal structure can be made out. In some cases, the cysts, before they escape from the body, appear to contain two animals, so that, in all probability, the encysting process is followed by a division of the *Lamblia* into two daughter individuals. These cysts, if swallowed by the mice, which must frequently happen, would give rise to two of the smaller forms of *Lamblia*. It is possible that these cysts are not sexual cysts and that the division of *Lamblia* can only take place in the encysted condition. No division of *Lamblia* in the free state has been observed and the large number of cysts present would lend colour to this idea. I have not been able to observe escape of the *Lambliae* from the cyst which may take place in normal conditions, without it being necessary for the cysts to leave the host.

If such be the case, there may be another kind of cyst which would serve for the transmission of the infection to new hosts, or the one kind of cyst may serve both to maintain the infection in the host itself and, also, to spread the infection when they escape from the body.

Hexamitus muris (GRASSI).

Syn. *Dicercomonas muris*.

This flagellate, first described by GRASSI and later by FOA, is very commonly found in the small intestine of mice, where it lives in company with *Lamblia*. It is characterised by having six flagellae at the anterior end of its body and two tail flagellae. The body is very variable in shape, but, in active forms, it is broad anteriorly and tapers to a point posteriorly. Some of these forms have been described by FOA as having a dorsal and ventral surface. The forms present in the small intestine have, as a rule, a narrow body (Pl. XII fig. 34). In the caecum sometimes occur forms with a much thicker body and with large granules in the protoplasm (Pl. XII fig. 35). These latter may occur with or without the narrower forms, and they resemble very much *Hexamitus inflatus*, though they had no mouth clefts at the insertion of the tail flagellae as figured by KLEBS for this form.

The narrower forms, which live mostly in the small intestine, but also, to a less extent, in the caecum, correspond with the *Dicercomonas muris* described by FOA. In these, the nucleus consists of two masses of chromatin lying one on each side of the anterior end of the body (Pl. XI figs. 24, 25, 29). Running through the body from the point at which the tail flagellae become free are two fibrous tracts, which stain darkly with nuclear stains. These tracts pass to the neighbourhood of the nuclei and there cross one another. They are then continued between the nuclei to end in certain granules, from which arise the six anterior flagellae. The arrangement of these granules is difficult to make out, owing to the minuteness of object. FOA figures one granule on each side, from each of which spring three of the six anterior flagellae. In the dorsal view of the animal figured by FOA each granule is connected by a darkly staining fibre to the nucleus of its side. After examining a large number of specimens it appears to me, that there are several granules, perhaps six, arranged on the anterior parts of the fibrous tracts which themselves unite at the extreme anterior end of the animal (Pl. XI figs. 24, 25, 29). The six flagellae are arranged in two sets of three, the

three flagellae of each side arising from grannles situated closely together.

The two masses representing the nuclei are in intimate relation with the two fibrous tracts. Whether there is an actual union between the nucleus and the fibrous tract of each side cannot be definitely stated (Pl. XI figs. 25, 29).

The origin of the tail flagellae is variable. Sometimes they arise close together (Pl. XI fig. 24). At other times they arise from the sides of the body, while there is a prolongation of the body between them as a tail process (Pl. XI fig. 29). All intermediate forms between these two types may be found.

As mentioned above, a larger form of *Hexamitus* is found in the caecum. As this is sometimes found when the form of *Hexamitus* just described is absent and as it is only found in the caecum and never in the small intestine, it probably belongs to a distinct species. This is supported by certain differences in the nuclear and flagellar apparatus. The tail flagellae arise close together and they are continued through the body towards the nucleus in what appears as a single darkly staining fibrous band (Pl. XI figs. 18, 19, 23). In specimens very much decoloured the two continuations of the tail flagellae may be seen extending through this band like structure (Pl. XI fig. 22). In this form the nuclear and flagellar apparatus at the anterior end of the animal are much more compact, so that it is impossible to distinguish the separate parts. The nucleus consists of a mass of chromatin on each side and from out this mass arise the six flagellae.

In division of these larger forms the parts of the band-like structure corresponding to each tail flagellum become more distinct and separated from one another. There then follows a splitting of each part of the nucleus and along with this a division of the fibrous band-like structure associated with it. This process results in forms having four nuclear masses with four fibrous bands each ending in a flagellum (Pl. XI figs. 26, 27, 28). The body of the animal then divides so that each portion contains two chromatin masses and two fibrous bands which arrange themselves as characteristic of the free living forms. The division of the smaller form of *Hexamitus* takes place in a similar way. Some of the division forms of this *Hexamitus* have been figured by FOA.

In the caecum certain oval cysts are to be found which contain *Hexamitus*. These cysts are about 6—7 μ in length and 3—4 μ in breadth. In stained preparations, the various parts of the animal

may be seen within the cyst (Pl. XI figs. 33, 34). Only one animal is contained in each cyst. In many of these cysts there appears to be a division of the nuclei, so that four chromatin masses result. These cysts probably belong to the larger form of *Hexamitus*.

The larger form of *Hexamitus* may be simply the fully grown form of those that live in the small intestine, but the differences in body form, in nuclear structure and in habitat are sufficient to distinguish it from these.

If faeces of mice infected with *Hexamitus* be kept moist outside the body, it will be found that forms of *Hexamitus*, indistinguishable both in the living and in the fixed and stained conditions from those that live in the small intestine, begin to appear and multiply in the faeces. It is quite conceivable that this form of *Hexamitus*, five distinct species of which have been described by KLEBS as occurring in solutions of decomposing material, is capable of living as well in decomposing matter as in the intestine of mice.

Schizogony in *Coccidium falciforme*.

If one examines the intestines of mice in the early stages of the infection with this coccidium, it will be found that schizogony is proceeding very rapidly and enormous numbers of schizonts are present. Each epithelial cell may be attacked by many merozoites, often causing the epithelial cells to break down, thus liberating the schizonts, which, however, continue their development enclosed in a kind of cyst often with double wall (Pl. XI fig. 44). Large numbers of these schizonts may be found in the debris. To the wall of the cyst the protoplasmic body of the schizont is attached at one spot and at this spot the wall is thickened or slightly invaginated (Pl. XI figs. 44, 48, 52, 55). These appearances suggest that the cyst is formed by the schizont, perhaps by a hardening of its surface. In those cases where two layers are present (Pl. XI fig. 44), the outer one may represent part of the protoplasm of the broken down epithelial cell.

The interesting point about this schizogony is that the merozoites, after attacking new cells, commence the process of schizogony before they have attained the size of the schizont from which they were derived. In this way, there is a continual diminution in the size of the schizonts in the stage of schizogony. The largest forms give rise to merozoites about $12\ \mu$ in length, while the smallest schizonts have a diameter of not more than $3\ \mu$ and give rise to

merozoites about $3\ \mu$ in length (Pl. XI figs. 41, 50, 53). The smallest merozoites have the same structure as the largest forms. They are sickle shaped and have a nucleus in which the chromatin is concentrated at the centre to form a karyosome. All intermediate sizes are met with. Later on in the infection, these small forms of schizont are absent. The rapid schizogony with the production of the increasingly small schizonts is comparable with the rapid division of *Trichomonas* which occurs sometimes and which results in the production of very small forms. In the case of the coccidium the early stages of the infection give an abundant food supply and conditions favourable for rapid multiplication.

The smaller forms of schizonts have smaller nuclei in proportion to their size than do the larger forms; this difference in size is quite out of proportion to the difference in size of the schizonts (Pl. XI figs. 42, 47, 49, 50). When the larger schizonts undergo schizogony, the nucleus breaks up and the chromatin is scattered in the cell (Pl. XI figs. 39—42, 47). The greater part of this chromatin is either thrown out of the schizont or is dissolved, while only a small part arranges itself, as the nuclei of the merozoites, over the surface of the schizont. In these large schizonts there is thus a superfluity of chromatin present in the nucleus. In the smaller schizonts the nuclei are much smaller and the formation of the nuclei of the merozoites takes place by a process of binary fission, the whole of the chromatin of the nucleus being used up in the process. In the later stages of the infection only the large schizonts are present and at this time begin to appear the gametocytes.

The method of this schizogony is interesting in the light of facts brought forward by RICHARD HERTWIG to show that cell division is dependent on the existence of a certain relation between the quantity of chromatin in the nucleus and the protoplasm of the cell. When the right relation exists between these two cell constituents, the cell will divide, but when this relation is disturbed in any way the cell division cannot take place till the relation is re-established. In the coccidium under consideration the relation existing between the nucleus and protoplasm of the small schizonts may be that one favourable to division. This relation is maintained and the rapid schizogony ensues. As the infection advances the condition of life of the coccidia is less favourable, many epithelial cells are destroyed and the mice may be acquiring some form of resistance. Under these conditions, the nutrition of the coccidium

cell is disturbed and the relation existing between nucleus and protoplasm is changed. The relation is no longer one which stimulates division and the large schizonts with their large nuclei result. These large schizonts, before they can divide, discard a large part of their chromatin and so, re-establishing the relation, undergo schizogony. Later on in the infection the gametocytes appear and the production of these may be the result of those changes in nutrition which give rise to the large schizonts. The continued disproportion existing between nucleus and protoplasm may lead to a condition which can no longer be remedied by a throwing out of chromatin, but only by the conjugation of differentiated gametes.

References to Literature.

- BLOCHMANN, F. (1884): Bemerkungen über einige Flagellaten (*Trichomonas vaginalis*, *Trichomonas batrachorum*, *Trichomastix lacertae*). Zeitschr. f. wiss. Zool. V. 40 p. 42.
- BÜTSCHLI (1863—1887): Mastigophora in BRONN's Klassen und Ordnungen des Tierreiches.
- CASAGRANDE e BARBAGALLO (1887): Entamoeba hominis s. Amoeba coli. Annali d'Igiene sperimentale. V. 7 fasc. 1.
- DANGEARD, P. A. (1900): Étude de la karyokinèse chez l'*Amoeba hyalina* sp. nov. Le Botaniste V. 7 p. 49—82.
- (1900): Étude de la karyokinèse chez la *Vampyrella vorax*.
- DOFLEIN, F. (1901): Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger. Jena (Gustav Fischer).
- FOA, A. (1904): Ricerche intorno a due specie di flagellati parassiti. Atti della Reale Accademia dei Lincei V. 13 p. 121—130.
- GOLDSCHMIDT, R. (1904): Die Chromidien der Protozoen. Arch. f. Protistenk. V. 5 p. 126—144.
- (1904): Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebezellen. Zool. Jahrb. Anat. V. 21 p. 49—140.
- GRASSI (1881): *Amoeba muris*. Atti a Società ital. d. Scienze naturali V. 24 p. 181.
- (1882): *Hexamitus muris*. Atti d. Società ital. d. Scienze naturali V. 24 p. 106.
- u. SCHREWIAKOFF: *Megastoma entericum*. Zeitschr. f. wiss. Zool. V. 46.
- HERTWIG, R. (1899): Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von *Actinosphaerium eichhorni*. Abh. d. math.-phys. Kl. d. Kgl. bayr. Akad. d. Wiss. V. 19.
- (1903): Über Korrelation von Zell- und Kerngröße und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle. Biol. Centralbl. V. 23 p. 49—62.
- JÜRGENS (1902): Zur Kenntnis der Darmamöben und der Amöbenenteritis. Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militärsanitätswesens Berlin V. 20 p. 110.

- KLEBS, G. (1893): Flagellatenstudien. Zeitschr. f. wiss. Zool. V. 55.
- KUNSTLER, T. (1898): Observations sur le *Trichomonas intestinalis*. Bull. Sci. France Belgique V. 31.
- LAVERAN et MESNIL (1901): Sur la morphologie et la systematique des Flagellés à membrane ondulante (genres *Trypanosoma* GRUBY et *Trichomonas* DONNÉ). C. R. Ac. Sci. Paris V. 133. 3 p. 131—137.
- MARCHAND, F. (1894): Über das Vorkommen von *Trichomonas* im Harn eines Mannes, nebst Bemerkungen über *Trichomonas vaginalis*. Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. V. 15 p. 709f.
- METZNER, R. (1902): Untersuchungen an *Megastoma entericum* (GRASSI) aus dem Kanincheudarm. Zeitschr. f. wiss. Zool. V. 70. 2.
- MINCHIN (1903): Sporozoa in LANKESTER's Treatise on Zoology. London (A. and C. Black).
- MORITZ u. HÖLZL (1892): Über Häufigkeit und Bedeutung des Vorkommens von *Megastoma entericum* im Darmkanal des Menschen. Sitz.-Ber. d. ärztl. Vereins in München.
- MUSGHAVE and CLEGG (1904): Amoebas: Their Cultivation and Etiologic Significance. Department of the Interior, Bureau of Government Laboratories, Biological Laboratory, Manila.
- PROWAZEK (1903): Flagellatenstudien. Arch. f. Protistenk. V. 2.
- (1904): Untersuchungen über einige parasitische Flagellaten. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte Berlin V. 21 p. 1—41.
- PERRONCITO (1887): Über die Einkapselung des *Megastoma intestinale*. Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. V. 2 p. 738.
- SCHAUDINN (1895): Über die Teilung von *Amoeba binucleata*. Sitz.-Ber. d. Gesellsch. Naturf. Freunde Berlin p. 130—141.
- (1903): Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte V. 19.

Description of Plates.

All the preparations from which the drawings were made were fixed in Sublimate-Alcohol (2:1) and stained with Ironhematoxylin except Pl. X figs. 5, 23, 37 and Pl. XI figs. 5 to 4, and 35 which were stained with very dilute DELAFIELD's hematoxylin.

Plate X.

Figs. 1—37. *Amoeba muris*.

Figs. 1—5. Free amoebae. 1. Large form with single nucleus and many food vacuoles including bacteria and *Trichomonas*. 2. *Amoeba* with two nuclei. 3. *Amoeba* with pseudopodium. 4. *Amoeba* with clear endoplasm. 5. Form showing dividing nucleus in spindle stage.

Figs. 6—9. First stage of cyst formation in which the single nucleus is present. 6 and 9 show the large refractile body.

Figs. 10—11. Division of single nucleus.

Fig. 12. Cyst with two nuclei surrounded by darkly staining protoplasm due to chromatin which has passed out of nuclei.

Fig. 13. Cyst with two nuclei and remains of food material being thrown out through gelatinous cyst wall.

Fig. 14. Cyst with two nuclei and very darkly staining protoplasm.

Figs. 15, 16. Cysts with two nuclei and refractile body occupying centre of cyst.

Fig. 17. Cyst with two nuclei and two refractile bodies. From one nucleus chromatin is passing out of cyst.

Figs. 18, 19. Cysts showing chromatin which is being thrown out. In these cysts no definite nuclei are left.

Fig. 20. Cyst with two nuclei much reduced in size. Chromatin and remains of food material passing out.

Fig. 21. Cyst with two nuclei and reduction bodies.

Fig. 22. Cyst with two nuclei after formation of reduction bodies. The two nuclei are lying together and chromatin is passing from the nuclei into the protoplasm which is staining darkly round the nuclei.

Fig. 23. Cyst with refractile body and two spindles. This is a stage a few minutes later than the stage represented in fig. 22. The darkly staining bodies present are partly food material and partly chromatin. The spindles will give rise to four nuclei which will conjugate in pairs.

Fig. 24. After conjugation of the nuclei, the two resulting nuclei increasing in size.

Fig. 25. A stage a little later than fig. 24 in which one nucleus has divided and one is almost divided.

Figs. 26, 27. Stages showing division of the two nuclei.

Fig. 28. Cyst with four nuclei and darkly staining food material.

Fig. 29. Cyst with four nuclei preparing for the next division.

Fig. 30. Cyst with refractile body and three nuclei. — Irregular division of nuclei.

Fig. 31. Cyst with refractile body and four nuclei.

Fig. 32. Cyst with four dividing nuclei.

Figs. 33—35. Cysts with eight nuclei. In 35 there is still a mass of the refractile body present.

Fig. 36. Cyst with somewhat shrunken walls to show the double nature of the cyst.

Fig. 37. a. Resting nucleus with greater part of the chromatin on the nuclear membrane. b. Nucleus with chromatin clumps which will be thrown off and ultimately disappear in the protoplasm. c. Stage in nuclear division. Within the nuclear membrane is the small spindle. At either pole is a more darkly staining region and between these the spindle fibres run. The granules of chromatin have left the nuclear membrane and now lie along the spindle fibres. d. Later stage of the spindle. The nuclear membrane now fits closely round the spindle while the chromatin is separating irregularly into two parts. All these nuclei from unencysted amoebae.

Figs. 38—41. Amoebae cultivated from faeces of mice. These amoebae are found occasionally in the rectum.

Fig. 38. Amoeba with resting nucleus.

Figs. 39—40. Amoeba with nucleus preparing for division with chromatin breaking up into smaller particles.

Figs. 41—42. Two views of equatorial plate stage.

Figs. 43—44. Amoebae with nuclei in process of division. The equatorial plate has divided. In 44 the spindle fibres can be seen extending between the poles of the nucleus.

Fig. 45. Oblique view of spindle at a stage a little later than in fig. 44. The two halves of the equatorial plate seen in surface view. In each plate four chromosomes.

Figs. 46—49. Different views of later stages of the spindle. In 47 and 49 the pole caps can be easily seen and also the central spindle fibre.

Fig. 50. Spindle drawn out to its utmost extent and division of amoeba almost complete.

Fig. 51. Encysted amoeba. These cysts are found in the faeces of mice and also in old cultures of the amoeba.

Plate XI.

Figs. 1—17, 20—21. *Trichomonas intestinalis*.

Fig. 1. General view of animal.

Fig. 2. Showing divided blepharoplast with connecting fibre and the dividing chromosomes in the nucleus. The supporting rod for the new undulating membrane is present though smaller than the original one.

Fig. 3. Division almost complete. The pointed organ only partially divided.

Figs. 4—7, 9—14. Various stages of division.

Figs. 15—17, 20. The smaller forms of *Trichomonas*, drawn under higher magnification. Figs. 15, 17 are forms in division. Fig. 16 form measuring about $4\ \mu$ in longest diameter.

Fig. 21. Form in last stage of division.

Figs. 18, 19, 22—29, 33, 34. *Hexamitus muris*.

Figs. 18, 19, 22, 23. Larger form of *Hexamitus* only found in caecum.

Figs. 24, 25, 29. Smaller form found in small intestine.

Figs. 26—28. *Hexamitus* in division.

Figs. 33—34. Cysts of *Hexamitus*.

Figs. 30—32, 36—38. *Lambliia intestinalis*.

Figs. 30—32. Cysts of *Lambliia*. 30 with two nuclei, 31 with nuclei in division and 32 with four nuclei.

Fig. 36. View of *Lambliia* from ventral surface.

Fig. 37. Side view of small form of *Lambliia*.

Fig. 38. Side view of larger form of *Lambliia*.

Figs. 39—55. *Coccidium falciforme* in stages of schizogony.

All the drawings in Pl. X were made with Zeiss drawing apparatus under Zeiss $\frac{1}{12}$ achromatic and oc. 4. In Pl. XI the same magnification was used for all except the figures of *Hexamitus* and figs. 15—17, 20 which were drawn under Zeiss apochromatic 2 mm and 18 comp. oc., figs. 30—32 made with $\frac{1}{12}$ achromatic and oc. 5, and figs. 36—38 which were drawn in outline with $\frac{1}{12}$ achromatic and 18 comp. oc. while the details were filled in under oc. 4.

Plate XII.

All figures are taken from the living objekt.

Fig. 1. Amoeba with large vacuole containing *Trichomonas*.

Fig. 2. Amoeba with vacuoles containing cocci.

Figs. 3-5. Drawings of Amoeba during process of encysting.

Fig. 6. Oval cyst of Amoeba.

Figs. 7-17. Stages in the development of a cyst as observed in a preparation kept warm in warm microscope chamber for four hours.

Figs. 18-21. Final stages of development of a cyst.

Figs. 22, 23. Two stages of a cyst left in warm chamber through the night.

Fig. 24. Cyst of Amoeba kept dry for two weeks.

Figs. 25-30. Various forms of the Amoeba cultivated from faeces of mice.

Fig. 31. Semi diagrammatic representation of structure of *Trichomonas intestinalis*.

Fig. 32. *Trichomonas* with large vacuole full of cocci.

Fig. 33. Showing fibres in living *Lambliæ*.

Figs. 34-35. Two forms of *Hexamitus*.

Nachdruck verboten.

Übersetzungsrecht vorbehalten.

Beobachtungen über vegetative, degenerative und germinative Vorgänge bei den Gregarinen des Mehlwurmdarms.

Von

Sergius Kuschakewitsch (Odessa).

(Hierzu Tafel XIII—XVI und 12 Textfiguren.)

Als Objekt der vorliegenden Beobachtungen haben mir die Gregarinen gedient, die im Darne der Larve von *Tenebrio molitor* (Mehlwurm) ihren Sitz haben. In den letzten Jahren wurden dieselben Tiere zweimal untersucht. BERNDT (1902) hat den Lebenscyclus von *Gregarina cuneata*, *Gregarina polymorpha* und *Gregarina steini* verfolgt. Ihm haben wir eine ausführliche Zusammenstellung der Beobachtungen der früheren Forscher, welche sich mit den Mehlwurmgregarinen beschäftigt haben, zu verdanken, was mir jetzt die Mühe einer historischen Einleitung erspart. LÉGER und DUBOSQ (1904), indem sie dieselben Gregarinen nachuntersuchten, haben gezeigt, daß BERNDT unter dem Namen von *Gregarina polymorpha*, außer dem richtigen Vertreter dieser Art, noch eine zweite selbständige Form beschrieben hatte, die von ihnen mit dem Namen *Steinina ovalis* belegt wurde. Die französischen Forscher haben die ersten vegetativen Stadien von *Gregarina cuneata* und *Steinina ovalis* hauptsächlich untersucht, und zwar das Eindringen des Sporozoiten in die Epithelzelle und seine Umwandlung zu dem erwachsenen Sporonten.

Ich habe ebenfalls in dem Darne der Mehlwürmer, die mir Vogelhändler in München geliefert hatten, die vier oben erwähnten Arten gefunden: *Gregarina cuneata* (F. St.), *Gregarina polymorpha*

(HAMM.), *Gregarina steini* (BERNDT) und *Steimina ovalis* (F. St.). Die letztere Form war immer sehr schwach vertreten und verschwand zeitweise ganz und gar; deshalb konnte ich sie bei meinen Beobachtungen nicht berücksichtigen.

Untersuchungsmethoden.

Als Fixierungsflüssigkeiten habe ich die SCHAUDINN'sche (Alkohol-Sublimat-Essigsäure) und die CARNOY'sche (Alkohol-Chloroform-Eisessig) am besten gefunden. Für die Beobachtungen an vegetativen Stadien wurden Ausstrich-, Total- und eventuell auch Schnittpräparate angefertigt. Die Cysten wurden in lebendigem Zustande sowie an Präparaten, die auf verschiedene Weise angefertigt waren, untersucht. Gute Totalpräparate haben mir für das Verständnis der Grundzüge des Entwicklungsgangs der Cyste den größten Dienst geleistet, und die Behauptung von BERNDT, daß an solchen Präparaten nur das Vorhandensein von zwei Individuen in jeder Cyste sich konstatieren läßt, hat sich als unbegründet erwiesen. Für die Untersuchung der Einzelheiten wurden die vorher in toto durchmusterten Cysten in Schnitte zerlegt oder in Nelkenöl zertrümmert. Eine sehr ausgiebige Methode, um in kurzer Zeit eine Menge von lehrreichen Präparaten anzufertigen, ist das von LÉGER (1904) angewandte Zerquetschen der lebendigen Cysten auf einem Deckgläschen, deren rasches Fixieren und weiteres Behandeln nach Art von Ausstrichpräparaten.

Unter natürlichen Bedingungen ist die Entwicklung der Cysten im Mehlwurmdarme auf die ersten Stadien beschränkt, auf denen sie mit den Fäces entleert werden. Für die Annahme eines von BERNDT vermuteten endogenen Cyclns habe ich keine Andeutung gefunden. Die späteren Stadien wurden gewonnen, indem die aus dem Darne herausgenommenen Cysten in einer feuchten Kammer weiter gezüchtet wurden. Als Kulturmedium diente ein Darmsafttropfen. Das sehr schädliche Auftreten von Pilzen in den Kulturen läßt sich leicht durch peinliche Reinlichkeit (jedemaliges Waschen der Kammer mit Seife und Anwendung eines nur dünnen Darmsaftes als Kulturflüssigkeit (eventuelle Verdünnung mit Cöloflüssigkeit des Wirtes) vermeiden. In dem Darne selbst waren die späteren Stadien zu bekommen, indem der After des Mehlwurms mit einer dicken Lösung von Mastix in Äther verklebt wurde.

Als Farbstoff für die Ausstrich- und Totalpräparate der Trophozoen und die Cystentotalpräparate habe ich ausschließlich Borax-

Karmin benutzt, welches bei nachträglicher Anhellung der Objekte in Nelken- oder Cedernöl die klarsten Bilder gegeben hat. Für die Schnitte und Ausstriche der zersprengten Cysten wurden hauptsächlich Hämatoxylin nach DELAFIELD und das Eisen-Hämatoxylinverfahren angewandt.

Die vegetativen Vorgänge.

Bezüglich der äußeren Gestalt der Tiere kann ich auf die Arbeiten von BERNDT (1902) und LÉGER u. DEBOSQ (1904) verweisen, die in dieser Zeitschrift erschienen sind. Hier werde ich nur einige, den Epimerit der *Gregarina polymorpha* betreffende Tatsachen anführen. Die kleinsten der von mir beobachteten Tiere ($26\ \mu$) besitzen keinen abgesetzten Epimerit, sondern nur eine doppelkonturierte Verdickung der Pellicula, die das etwas schmalere vordere Protomeritende als eine Kappe deckt (Textfig. A). Bei größeren Tieren (meistens schon von $30\ \mu$ an) erscheint die Oberfläche dieser Kappe mit abgerundeten Warzen besetzt, so daß der Kappenrand im optischen Längsschnitte gefranzt aussieht (Textfig. B). Dann gewinnt der vordere Abschnitt des Protomerits mehr Selbständigkeit, indem eine Ringfurche ihn von dessen übrigen Teil abgrenzt. Auf diese



Fig. A.
Oc. 4 Ob. 2.



Fig. B.
Oc. 4 Ob. 2.



Fig. C.
Oc. 4 Ob. 2.

Weise bekommen wir einen regelrechten Epimerit. Sein Ectoplasma zieht sich stellenweise von der verdickten Pellicula zurück, und es werden auf diese Weise kleine kugelige Hohlräume gebildet. Ihre äußere Wand besteht aus der alten doppelkonturierten Pellicula, die innere — aus einer neu angeschiedenen dünnen und festen Membran (Textfig. C). In dieser Form scheint der primäre Epimerit den Höhepunkt der Entwicklung zu erlangen und verloren zu gehen. Meistens haben die $60\text{--}70\ \mu$ großen Tiere das Sporontenstadium erreicht.

Auffallenderweise erscheinen in einigen Kulturen auch die viel größeren Individuen mit Epimeriten versehen. Es ist höchst wahrscheinlich, daß es sich dabei um eine Regeneration des Epimerits handelt. In der Tat konnte ich vollständige Serien von dem Neu-

bildungsprozeß des Epimerits finden, wie es die Textfiguren D—G an Tieren veranschaulichen, deren Größe von 90 bis 150 μ schwankt.



Fig. D.
Oc. 4 Ob. 2.

Fig. E.
Oc. 4 Ob. 2.

Fig. F.
Oc. 4 Ob. 2.

Fig. G.
Oc. 4 Ob. 2.

Die auf diese Weise gebildeten Epimerite sind spitz kegelförmig und haben eine glatte Oberfläche (Textfig. G), unterscheiden sich also



Fig. H.
Oc. 4 Ob. 2.

Fig. J.
Oc. 4 Ob. 2.

beträchtlich von denen der kleinen Cephalonten. Auf den Textfiguren H und I sind die Vorderenden zwei noch größerer Tiere (208 resp. 225 μ) mit etwas abweichend gestalteten Epimeriten abgebildet.

Die Regeneration des Epimerits wurde schon von LÉGER und DUBOSCQ (1902) bei der Gregarine *Pyzinia möbuszi* beobachtet. Die Autoren fassen die Fähigkeit der betreffenden Art, den Epimerit abzuwerfen und dann wieder zu bilden, als eine Anpassung an die Häutungen des Wirtes an. Die Bildung eines transitorischen Epimerits, der rückgebildet und durch den definitiven ersetzt wird, haben dieselben Forscher (1904) für *Stylorhynchus longicollis* beschrieben.

Ich will jetzt gewisse Einzelheiten der inneren Struktur der von mir untersuchten Objekte erörtern. In Anbetracht der großen Ähnlichkeit der drei Arten werde ich nur *Gregarina cuneata* näher beschreiben und dabei auf einige Besonderheiten der beiden anderen Species im einzelnen eingehen.

Auf einem Querschnitte (Fig. 1) kann man deutlich drei Schichten des Tierkörpers unterscheiden. Die äußerte Schicht bildet die dicke Pellicula mit ihren gewöhnlichen Längsleisten, die sich im Querschnitt als eine Zahnradkontur darstellt. Nach dem Centrum zu folgt dann eine Zone von kompaktem, feinalveolarem Ectoplasma, das meistens frei von jeglichen Einschlüssen ist. Im Centrum findet sich die Entoplasmamasse. Diese hat im allgemeinen eine deutliche Wabenstruktur, wobei die Alveolen bald kaum erkennbar klein, bald zu großen Vacuolen angewachsen sind. Im Entoplasma finden sich dreierlei Einschlüsse.

In den Wabenlumina treten Paraglykogenkörner an. Dies sind runde, stark lichtbrechende Körper, die im Durchmesser eine Größe von $6\ \mu$ erreichen können und eine deutliche konzentrische Struktur zeigen (Textfig. K). Die letztere ist schon in frischem Zustande als eine Reihenfolge von dunkleren und helleren Schichten zu unterscheiden, tritt aber besonders deutlich nach Behandlung mit Jodlösungen oder an den mit Anilinfarbstoffen (Safranin, Gentiana, Magenta) gefärbten Präparaten hervor.



Fig. K.
Oc. 12 Ob. 2.



Fig. L.
Oc. 8 Ob. 2.

Fast immer sind im Entoplasma kleine bräunliche, stark lichtbrechende Körperchen zu sehen, die bei Betrachtung von der Oberfläche sehr hell, bei tieferer Einstellung sehr dunkel erscheinen. Sie treten zuerst in den Wabenwänden auf, bei ansehnlicherer Größe scheinen sie in die Wabenlumina hineinzufallen. Dort scheinen sie dem Paraglykogen als Ansammlungscentra zu dienen, da man sie häufig in der Mitte der Paraglykogenkörner finden kann (Textfig. K). Manchmal habe ich Anhäufungen dieser bräunlichen Körperchen in besonderen, größeren Vacuolen gesehen (Textfig. L). In anderen Fällen waren Ansammlungen auf der Grenze zwischen Ecto- und Entoplasma zu konstatieren. Die Hauptmasse dieser Gebilde liegt bisweilen im Protomerit. Ich glaube, daß diese Körnchen mit denen identisch sind, die unlängst LÉGER (1906) für die Gregarine *Taeniocystis mira* beschrieb, und die er, anscheinend mit Recht, für Exkretstoffe hält. Ähnliche Gebilde sind schon lange bei anderen Protozoen bekannt: Ciliata, Flagellata (BÜTSCHLI 1880—89), Rhizopoda (PÉNARD 1902).

Als konstante Bestandteile des Entoplasmas sind, meiner Meinung nach, die kleinen Chromatinkörnchen zu betrachten, die in den Wabenwänden eingelagert sind. Bald treten sie vereinzelt auf, bald durchsetzen sie das Plasma so dicht, daß sie den Charakter eines Chromidialnetzes annehmen (Fig. 1). Dieses Netz kann im ganzen Entoplasma des Tieres gleichmäßig verbreitet oder nur stellenweise vorhanden sein. Dann nimmt das Protoplasma des Tierkörpers auf den Totalpräparaten ein fleckiges Aussehen an. In anderen Fällen durchzieht das Chromidialnetz das Plasma in Form von langen Strängen.

Das Chromidialnetz scheint also, wenn es auch verschieden stark entwickelt und verbreitet vorkommt, fast niemals vollständig zu fehlen. In dieser Hinsicht erinnert es an den Chromidialapparat von *Actinosphaerium* (R. HERTWIG, 1904). — Was für eine Bedeutung hat nun dies Gebilde? Bedeutet es eine Ausscheidung von Kernteilen, die funktionell unbrauchbar sind, wie es R. HERTWIG für die Chromidien von *Actinosphaerium* annimmt? Oder ist es Chromatin, das im Leben der Zelle noch eine funktionelle Rolle zu spielen hat, was mehr den Anschauungen von GOLDSCHMIDT (1905 b) entsprechend wäre? Die Frage ist zurzeit kaum zu entscheiden.

Es können im Entoplasma auch viel größere, unregelmäßige, chromatische Körper auftreten (Fig. 58). Einzelne von ihnen erreichen manchmal die Größe des Kernes (Textfig. M, *Gr. steini*). Sie werden wahrscheinlich durch das Zusammenballen der kleineren Chromatinkörner gebildet.

Die extranucleären Chromatinelemente, die schon SCHNEIDER (1875) bei den Gregarinen gefunden hatte, wurden in den letzten Jahren von verschiedenen Autoren bei den Vertretern dieser Gruppe beobachtet (DRZEWECKI, 1903; LÉGER 1904 a, 1906, 1907; LÉGER u. DUBOSCQ 1902, 1904). Große kernartige Chromidialgebilde hat DRZEWECKI bei jungen *Monocystis* von *Lumbricus* und wahrscheinlich BRASS (1883—84) bei *Gregarina polymorpha* gesehen.

Der Kern unterscheidet sich nicht von dem für die Gregarinen gewöhnlichen Schema. Es ist ein Bläschen, das durch eine deut-

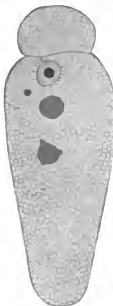


Fig. M.
Oc. 4 Ob. 2.

liche Membran von dem Plasma abgegrenzt ist. Was die Beschaffenheit dieser Kernmembran betrifft, so scheint sie protoplasmatischer Natur zu sein. Sie färbt sich wenigstens immer auf dieselbe Weise, wie das Plasma, bei Anwendung von allen von mir benutzten Färbemethoden. In dieser Beziehung stimmen meine Beobachtungen mit denen von DOFLEIN (*Noctiluca*, 1900), ZUELZER (1904), PÉNARD (1902), AWERINZEW (1907) (Süßwasserrhizopoden) und STRASSBURGER (1884) überein. BÜTSCHLI (1876), PFITZNER (1883), R. HERTWIG (1896, 1898), WASSILIEFF (1902) leiten dagegen die Kernmembran vom Kerngerüste ab.

Das Kernbläschen ist mit feinwabigem Caryoplasma ausgefüllt, in dem ein runder Nucleolus (Caryosom der Autoren) sich findet. Als Ausgangspunkt kann man einen Kern betrachten, dessen ganzes Chromatin im Nucleolus konzentriert ist. In diesem ziemlich seltenen Falle sind keine Chromatinelemente sogar bei Anwendung der E.-H.-Färbungsmethode im Liningerüst zu finden (Fig. 3). Der Nucleolus scheint aus einer homogenen, stark färbbaren Grundsubstanz zu bestehen, die mit verhältnismäßig kleinen und spärlichen Vacuolen durchsetzt ist. Nicht selten ist in dem Nucleolus eine Anhäufung der oben beschriebenen Exkretkörnchen zu sehen. Ein solcher Zustand des Kernes ist als Ausdruck seiner funktionellen Ruhe zu betrachten.

Viel häufiger findet man Kerne im Zustande einer mehr oder weniger intensiven Tätigkeit, wo ein Teil des Chromatins so zu sagen mobilisiert wird, indem dasselbe in Form von Körperchen von verschiedener Größe den Nucleolus verläßt und das Liningerüst durchsetzt. Der in Hauptzügen von BERNDT (1902) beschriebene Prozeß des Austretens des Chromatins aus dem Nucleolus findet folgendermaßen statt: In den peripheren Vacuolen des letzteren werden kleine rundliche Gebilde sichtbar, die eine blasse centrale Masse und eine stark färbbare äußere Schicht aufweisen. Die Vacuole nähert sich der Oberfläche des Nucleolus, und dann gerät das chromatische Körperchen in das Caryoplasma, indem die Scheidewand zu platzen scheint, die die Vacuole vom Caryoplasma trennte (Fig. 4). Auch kann das Körperchen eine Zeitlang an der Oberfläche des Nucleolus durch ein farbloses Stielchen befestigt bleiben. Man findet manchmal Nucleoli, die von einer großen Zahl von solchen Körperchen bedeckt sind (Fig. 5). Früher oder später lösen sich die letzteren ab und zerfallen in winzige Körnchen, die sich im Kerngerüst verteilen. Die Größe der besprochenen Körperchen kann sehr verschieden sein. Ich konnte aber nicht zwei Sorten von ihnen unter-

scheiden (kleinere basophile und größere acidophile), wie es LÉGER u. DUROSCQ (1904) bei *Stylorhynchus* getan haben.

Einen ähnlichen Prozeß der Chromatinverteilung im Kernraume hat R. HERTWIG (1898) bei Actinosphaerien, die in voller Assimilation begriffen waren, beobachtet und seine Bedeutung hervorgehoben. „Die feine Verteilung des Chromatins bei stark assimilierenden Tieren ist eine Erscheinung, die vollkommen zu der herrschenden Auffassung von der Funktion des Kerns, speziell des Chromatins paßt. Wenn es richtig ist, daß der Kern auf den Verlauf der Lebensfunktionen des Protoplasmas einen Einfluß ausübt und zwar durch Vermittlung des Chromatins, so muß letzteres in stark funktionierenden Zellen eine Anordnung gewinnen, welche für Entfaltung seiner Eigenschaften die günstigste ist. Eine derartige Anordnung ist wohl sicher in der feinen Verteilung gegeben.“

Wahrscheinlich bei erhöhter funktioneller Tätigkeit, wenn das Kerngerüst besonders reich an Chromatinkörnchen ist, zeigt der Nucleolus die folgende Struktur, die am deutlichsten an den mit FLEMMING'scher Flüssigkeit fixierten und mit Safranin-Lichtgrün gefärbten Schnittpräparaten hervortritt. Der Nucleolus befindet sich in einem Erschöpfungszustande. Bald ist er grob vacuolisiert, wobei doch eine Insel von kompakterer Substanz erhalten bleibt (Fig. 6); bald zeigt er ein achromatisches Stroma, das seiner Struktur und Färbbarkeit nach dem Liningerüst auffallend ähnlich erscheint. In diesem letzteren Falle erscheinen die Reste des Chromatins entweder in Form eines groben Gerüsts, das in dem achromatischen Stroma sich stellenweise ausbreitet (Fig. 7), oder sammeln sich an der Peripherie desselben, sei es als kompakter Ring (Fig. 8), sei es als einzelne Kugeln (Fig. 9).

Ich glaube, daß dieser Zustand des Nucleolus es uns erlaubt, einen richtigen Begriff von seiner feineren Struktur zu gewinnen. Als Grundlage für den Aufbau des Nucleolus scheint ein Liningerüst zu dienen, das von einer Verbindung von Nucleolar- und Chromatinsubstanz durchtränkt und meistens verdeckt ist. Aber sobald diese letzteren Bestandteile gewisse Bezirke des Nucleolus verlassen, tritt an den entsprechenden Stellen die wabige Natur desselben deutlich hervor. Dabei möchte ich darauf hinweisen, daß auch andere Autoren zu ähnlichen Anschauungen über die Natur des Nucleolus an anderen Objekten gekommen sind. So faßt DOPLEIN (1900) die Nucleoli bei *Noctiluca* „nur wie Verdichtungen in dem achromatischen Netzwerk . . . , innerhalb deren die Chromatinbrocken besonders dicht und dick gelagert sind“, auf. VAHLKAMPF (1904) vermutet, daß

„die achromatische Substanz im Kerne von *Basidiobolus lacertae* ein Netz innerhalb der Kernmembran bildet, dessen centrale Alveolen (Caryosom) von Chromatin und dessen periphere von Kernsaft ausgefüllt sind“.

BERNDT (1902) glaubt, daß das Anstreten des Chromatins ans dem Nucleolus einem gewissen Alter der Gregarinen entspricht. Einen solchen Zusammenhang konnte ich nicht konstatieren. Einerseits habe ich öfters verhältnismäßig kleine solitäre Individuen mit durch Abgabe von Chromatin erschöpften Nucleoli gefunden, andererseits finden sich chromatinreiche Nucleoli bei Syzygiten, die in der Encystierung begriffen sind. Es scheint mir deshalb wahrscheinlicher zu sein, daß wir es mit einer periodischen Erscheinung zu tun haben: wiederholt findet eine Anhäufung des Chromatins in dem Nucleolus und dessen nachheriger Übergang in das Caryoplasma bei erhöhter funktioneller Tätigkeit des Tieres statt.

Ein Teil des im Caryoplasma vorhandenen Chromatins kann zweifellos auch bei Vorhandensein der Kernmembran in das Protoplasma übertreten. Meistens läßt sich ein solcher Prozeß aus der Lage der Chromidialbrückchen in der Nähe des Kernes erschließen. Ich möchte außerdem ein Präparat erwähnen, auf dem der Vorgang besonders gut zu beobachten war. Bei einigen *Gregarina steini* war eine ununterbrochene Reihe von Chromatinbrückchen von der Kernoberfläche bis zum Septum und von da aus in den Protomerit zu verfolgen. Das Caryoplasma war mit ebensolchen Chromatinelementen gefüllt, deren einige sich der Kernmembran anschmiegen.

Der Nucleolus von *Gregarina steini* scheint die Fähigkeit zu haben, mit dem Protoplasma in unmittelbare Beziehung zu treten. Nicht selten sieht man den Nucleolus ganz an der Peripherie des Kernes liegen und eine Lücke in der Kernmembran ausfüllen (Fig. 13). Die nicht weit im Plasma befindlichen Chromatinkörnchen können direkt vom Nucleolus stammen. Eine ähnliche Lage des Nucleolus wurde von DOGIEL (1906) für *Cystobia chirodotae* beobachtet. Der Verfasser glaubt aber, daß es sich nur um einen Austausch von flüssigen Bestandteilen handle.

In dem Kerne von *Gregarina polymorpha* ist der Nucleolus dadurch bemerkenswert, daß er aus zwei Teilen besteht, und zwar aus einem chromatinreichen und einem ganz anfärbbaren, der dem ersteren in Form einer Kappe anliegt (Fig. 10). Im optischen Schnitte erscheint der farblose Teil als eine Sichel, die schon von BERNDT gesehen wurde. Die achromatische Kappe stellt kein beständiges Gebilde dar; ihr Vorhandensein oder ihre Abwesenheit stehen in

keinem Zusammenhange mit der Größe der Individuen. Das Gebilde scheint eine Verdichtung vom Liningerüst zu sein und sich zeitweise in dasselbe umzuwandeln. Ich konnte wenigstens manchmal sehen, wie die viel kleiner gewordene „Sichel“ einen unregelmäßigen, in Ansläufer ausgezogenen äußeren Raud aufweist, der in das Liningerüst übergeht. Zwei verschiedene Teile konnte auch DOGIEL (1906) in dem Nucleolus von *Cystobia* unterscheiden.

Bis jetzt habe ich die Kernveränderungen berücksichtigt, die sich im Inneren einer in der äußeren Form beständigen Kernmembran abspielen. Auf einer weiteren Stufe der Kerntätigkeit fängt der Kern an, seine gewöhnliche abgerundete Form zu verändern. Die Kernmembran wird dünner. An der Kernoberfläche bilden sich Fortsätze, so daß der Kern im ganzen einer Amöbe nicht unähnlich sieht (Fig. 15). Der Prozeß spielt sich meistens bei Tieren mit chromatinreichem Kerngerüst ab.

Die Erscheinung der Bildung von pseudopodienartigen Kernausläufern scheint in Tier- und Pflanzenreich eine sehr verbreitete zu sein. Abgesehen von den wenigen Fällen, in denen die merkwürdige Kernform durch mechanische Verhältnisse hervorgerufen zu sein scheint (z. B. bei *Spirogyra* durch den auf die Kernmembran ausgeübten Zug seitens der an derselben haftenden Protoplasmastränge, MEUNIER 1888) und keine weitere Bedeutung hat, hat sie offenbar die Aufgabe einen regen Stoffaustausch zwischen Kern und Plasma zu ermöglichen, da einerseits die dünner gewordene Kernmembran durchlässiger erscheint, andererseits, wie es schon von KORSCHOLT (1889) hervorgehoben wurde, die Kernoberfläche sich dabei bedeutend vergrößert. Hierher gehören die zahlreichen Beobachtungen an Ei- und Drüsenzellen (KORSCHOLT, 1889; VAN BAMBEKE, 1898; bei beiden ausführliche Zusammenstellung der Befunde der früheren Autoren), an *Euglypha* in Vorbereitungsteilungsstadien (SCHEWIAKOFF, 1888), an Macrogameten von *Adelæa* (PÉREZ, 1903; LÉGER, 1904a; MOROFF, 1906). Nur einen Schritt weiter in diesem Prozeß stellen die „geflamten“ Kerne von den Gregarinen dar, die in anderem Zusammenhange behandelt werden sollen.

Bisweilen scheinen die pseudopodienartigen Ausläufer des Kernes sich abrunden zu können. So sieht man auf der Fig. 16 den Rand des Kernes von runden Höckern besetzt. Die Höcker lösen sich teilweise ab und zerstreuen sich im Plasma als Körperchen, die aus einem mit zerstäubtem Chromatin durchsetzten Stroma bestehen.

Bei den bis jetzt beschriebenen Veränderungen des Kernes hatte derselbe seine morphologische Abgrenzung vom Protoplasma beibe-

balten. Man findet aber Tiere, bei denen der Kern und das umgebende Plasma eine so tiefgreifende Umgestaltung erlitten haben, daß es nicht mehr möglich ist, eine Grenze zwischen beiden zu ziehen. Die Kernmembran ist nicht mehr zu sehen. Im Protoplasma ist teilweise oder ganz die primäre Wabenstruktur verschwunden. Es erscheint als ein schwammartiges Gerüst von gröberen Strängen, die ihrerseits eine ganz feine alveolare Struktur zeigen. Diese Stränge gehen ununterbrochen in das Kerngerüst über (Fig. 17). Das Protoplasma hat, mit anderen Worten, eine dem Caryoplasma ähnliche Struktur angenommen. Das Kerngerüst kann seinerseits sich in Stränge auflösen, die doch die primäre feinwabige Struktur behalten und dabei immer engere Maschen bilden, als die ebenso beschaffenen Plasmastränge, in die sie übergehen (Fig. 18). Je nachdem das Kerngerüst chromatinarm oder -reich gewesen war, sind die oben erwähnten Plasmastränge fast chromatinfrei (Fig. 17) oder mit Chromatinkörnchen reichlich durchsetzt (Fig. 18). Stellenweise kann ein kleiner Rest von der Kernmembran erhalten bleiben (Fig. 18). Auffallenderweise ist eine solche Veränderung von Kern und Protoplasma mit einer fast vollständigen Abwesenheit von Paraglykogen im Entoplasma verbunden. Ich bin geneigt, diese Tatsache so aufzufassen, daß wir entweder eine Periode von erhöhtem Reservestoffverbrauch (Wachstum, Hunger usw.) vor uns haben, oder einen Zustand von beginnender intensiver Paraglykogen-Neubildung, die einer solchen Periode folgt. Jedenfalls scheint hier der Kern in hohem Grade in Anspruch genommen zu sein, was durch diese innige Verbindung zwischen Kern und Plasma zum Ausdruck kommt.

Ähnliche Befunde wurden schon früher von verschiedenen Autoren gemacht. So, z. B., haben BARFURTH (1885) und LANGE (1902) in den Speicheldrüsen von Gasteropoden, MARCUS (1906) in den Ovocysten von *Ascaris mystax* die zackige Ausbildung des Kernes und den unmittelbaren Übergang des Kerngerüsts ins Plasma beobachtet und mit der erhöhten Tätigkeit (Sekretion, Glykogenbildung) in Zusammenhang gebracht. SIEDLECKI (1905) hat ebenfalls während der vegetativen Periode von einer Coccidie (*Caryotropha mesnili*) den Schwund der Grenze zwischen dem Kern und dem Protoplasma beobachtet.

Ich halte also den Vorgang für ganz normal; mit dem Eintreten einer Periode von verhältnismäßiger Ruhe in der Funktion der Zelle scheinen der Kern und das Plasma wieder die entsprechende, am Anfange beschriebene Struktur anzunehmen. Als Reste von diesen Zuständen, die also einer erhöhten Funktion der Zelle entsprechen, betrachte ich die feinalveolaren, bald chromatinfreien, bald chromatin-

reichen Stränge, die manchmal das gewöhnliche Entoplasma von scheinbar funktionell ruhenden Zellen in verschiedenen Richtungen durchziehen.

Die bisher besprochenen Erscheinungen habe ich als vegetative Vorgänge aufgefaßt. Sie scheinen im Laufe des Parasitenlebens sich wiederholt abzuspielen und ein Ausdruck von vorübergehenden funktionellen Zuständen der Zelle zu sein. Jetzt wende ich mich zu einer Reihe von Kernveränderungen, denen ich eine andere Bedeutung beimesse.

Die degenerativen Vorgänge.

Aus praktischen Gründen werde ich die von mir in diese Abteilung gebrachten Kernveränderungen in einzelne Gruppen einteilen. Ich will dabei im Voraus sagen, daß meine Einteilung ganz künstlich ist; in Wirklichkeit ist es ganz unmöglich, eine scharfe Grenze zwischen den von mir aufgestellten Kategorien aufrecht zu erhalten.

Die Vorgänge spielen sich fast identisch bei allen drei von mir untersuchten Arten ab. Um überflüssige Wiederholungen zu vermeiden, werde ich die Zustände immer für die betreffende Art beschreiben, wo ich sie in möglichst ausgeprägter Weise gefunden habe. Dabei wird eventuell auf die Abweichungen bei den anderen Arten aufmerksam gemacht werden.

1. Die einfachste Reihe von Kerndegenerationen beginnt damit, daß eine Hemisphäre des vorher runden Kernes eine Invagination erleidet. Infolgedessen erscheint der Kern im optischen Schnitte halbmondförmig. Die Kernmembran bleibt dabei vollständig erhalten. Der Nucleolus bekommt ungefähr dieselbe äußere Form, wie der ganze Kern und fängt an, sich zu entfärben, indem farblose Flecken in ihm auftreten. Das Volumen des Kernes und des Nucleolus hat sich dabei zweifellos vermindert, da die Verkürzung des Durchmessers in einer Richtung nicht durch eine entsprechende Verlängerung in einer anderen Richtung kompensiert wird (Fig. 19). In weiterem Verlaufe des Prozesses nähern sich die konkave und die konvexe Hälfte der Kernmembran immer mehr und mehr einander. Der Nucleolus verschwindet spurlos, das Kerngerüst ist bis auf einige farblose Linienstränge reduziert. Die Kernmembran bleibt immer erhalten. Das ganze Gebilde ist chromatinfrei (Fig. 20). Doch auch diese letzten Spuren vom Kerne scheinen zu verschwinden, und wir haben eine vollständig kernlose Form, wie sie für *Gregarina steini* auf der Figur 55 dargestellt ist.

Kerne mit eingestülptem Teile der Kernmembran haben schon BERNDT (1902) bei *Gregarina cuneata* und DRZEWECKI (1903) bei *Monocystis porrecta* gesehen. Vielleicht waren es Anfangsstadien des von mir geschilderten Prozesses.

II. In diesem Abschnitt werde ich eine zweite Reihe von degenerativen Kernveränderungen beschreiben, und zwar zuerst für *Gregarina cuneata*, wo diese Kernumgestaltungen ganz besonders charakteristisch zu sein scheinen. Als erstes Zeichen von Kernumwandlungen erscheint eine Veränderung in der Beschaffenheit des Liningerüsts. Nämlich ein Teil desselben verliert die charakteristische feinwabige Struktur und erscheint ganz homogen (Fig. 21). Der Prozeß verbreitet sich, und bald bildet der ganze Kerninhalt eine einheitliche kompakte Masse, in der man noch den scharf abgegrenzten Nucleolus dank seiner Färbbarkeit unterscheidet (Fig. 22). Bald fängt jedoch der Nucleolus an, immer blasser und blasser zu werden. Dabei verliert er seine ursprüngliche scharfe Abgrenzung, indessen wird seine Lage noch eine Zeitlang durch einen farbigen verschwommenen Fleck gekennzeichnet (Fig. 23). Doch auch dieser verschwindet nach einiger Zeit; dann sieht der ganze Inhalt des Kernes wie eine homogene, beinahe farblose Masse aus. Die Kernmembran bleibt während der ersten Stadien des Prozesses unverändert, verschwindet dann aber vollständig im weiteren Verlaufe desselben. Allmählich nimmt der Kern eine alveolare Struktur an, die bald von dem plasmatischen Wabenwerk nicht mehr zu unterscheiden ist (Fig. 24).

In der soeben angeführten Reihe von Kernveränderungen haben wir zum ersten Male mit einem Falle zu tun, wo, im Gegensatz zu dem früher beschriebenen Schwunde des Kernes, kein Verdrängen des Nucleus durch das Plasma, sondern eine allmähliche Umwandlung des ersteren in das letztere stattfindet. Am besten kann man sich an solchen Präparaten davon überzeugen, wo der Kern protoplasmatische Beschaffenheit angenommen hat, aber mit dem Plasma doch noch nicht verschmolzen ist, indem er eine Abgrenzung von diesem aufweist, die bei Schrumpfung durch Anwendung von Reagentien als eine Spalte zu beobachten ist (Fig. 24).

Den beiden besprochenen Kategorien von Kernveränderungen ist die von Anfang an eintretende Hypochromasie der Kerne gemeinsam.

Die in dem Abschnitte II beschriebenen Kerndegenerationen sind in einer Beziehung dem von R. HERTWIG (1904) beobachteten Vorgange der Bildung der nucleolaren Riesenkerne bei *Actinosphaerium*

ähnlich. Wie dort bekommt man auch in meinem Falle am Ende des Prozesses im Innern des Kernes anstatt des früheren Kerngerüsts eine homogene Masse, die vielleicht auch nucleolarer Natur ist. Es gibt aber wichtige Unterschiede im Verlaufe der Kernveränderungen in den beiden Fällen. Bei *Actinosphaerium* wird das Kerngerüst durch den riesig anwachsenden Nucleolus verdrängt, bei meinen Gregarinen findet eine Umwandlung des Liningerüsts in eine homogene, von dem Nucleolus morphologisch nicht unterscheidbare Substanz, die mit dem entfärbten Nucleolus zuletzt eine kontinuierliche Masse bildet. Einen genau solchen Vorgang scheint PIANESE bei einigen Kernveränderungen in den Carcinomenzellen beobachtet zu haben, wie es aus der HERTWIG'schen Wiedergabe (1904) zu erschließen ist. Weitere Unterschiede von den für *Actinosphaerium* festgestellten Tatsachen bestehen in meinem Falle darin, daß die Kerne der Gregarinen keine Volumenzunahme dabei aufweisen und nicht ausgestoßen werden, sondern sich in ein mit dem Plasma identisches Gerüst an Ort und Stelle umwandeln.

Die oben beschriebene Umwandlung des wabigen Liningerüsts in einen homogenen Körper zeigt analoge Vorgänge in schon früher bekannten Erscheinungen. So beschreibt R. HERTWIG (1896) bei mit Strychnin behandelten Seeigelleiern in der Reihe von Kernmetamorphosen ein Stadium, wo „die Chromosomen . . . in einem homogenen glasartig aussehenden Körper liegen“. Denselben deutet der Verfasser „als das umgewandelte Liningerüst des Kernes“. Dabei führt HERTWIG als Beispiel von sonst beobachteten Umwandlungen einer differenzierten Lininstruktur in eine homogene Masse die für die Richtungsspindel bei *Ascaris* von BOVERI beschriebene Tatsache an, daß „Spindelfasern wiederum untereinander zu homogenem Körper verkleben können“.

Eine nicht seltene Variation des von mir zuletzt beschriebenen Prozesses besteht darin, daß die Umwandlung der kompakt gewordenen Lininmasse in ein Plasmagerüst schon beginnt, bevor der Nucleolus seine Färbbarkeit und Abgrenzung eingebüßt hat (Fig. 25). Dieser Fall führt zu der in dem nächsten Abschnitte behandelten Reihe von Kerndegenerationen über.

Als eine Modifikation von prinzipiell denselben Kernmetamorphosen sind die Fälle zu betrachten, wo der Prozeß durch einen Zerfall des Nucleolus eingeleitet wird. Besonders ist die Erscheinung für *Gregarina steini* charakteristisch, aber auch bei den zwei anderen Arten nicht selten zu beobachten. Ich konnte den Vorgang Schritt für Schritt an Serien von Präparaten verfolgen. Der Nucleolus ver-

liert seine runde Form, wird unregelmäßig und zieht sich in verschiedenen Richtungen ans. Brückchen von wechselnder Größe lösen sich von ihm ab, meistens ganz regellos (Fig. 26), manchmal auch in radiär angeordneten Strömen (Fig. 27), bis schließlich von einem Mutternucleolus keine Rede mehr sein kann, und eine Menge von Chromatinschollen in dem ganzen Kerne mehr oder weniger gleichmäßig verbreitet ist (Fig. 28). Die Schollen zerstäuben sich und verschwinden dann ganz und gar. Es bildet sich ein chromatinloser Kern. Sein Lininwerk wird allmählich homogen und macht alle weiteren oben beschriebenen Umwandlungen durch. Die Figuren 29, 30 und 31 veranschaulichen einige Phasen dieses Prozesses von Nucleoluszerfall bei *Gr. cuneata* (Fig. 29) und *Greg. polymorpha* (Fig. 30, 31).

Der Zerfall eines einheitlichen Nucleolus im Laufe der vegetativen Entwicklung wurde vielfach bei verschiedenen Gregarinen beschrieben und meistens als Ausdruck von zunehmendem Alter der Gregarine betrachtet (s. bei LÜHE, 1904, die Zusammenstellung und kritische Besprechung der betreffenden Angaben). Speziell bei *Gregarina steini* wurden zerfallene Nucleoli von BERNDT (1902) beobachtet. Der Verfasser macht dabei darauf aufmerksam, daß die Erscheinung sich schon bei kleineren Tieren beobachten läßt, daß größere Tiere dagegen einen gut erhaltenen Nucleolus aufweisen. Ich halte den Vorgang für eine Kerndegeneration aus folgenden Gründen. Bei frisch encystierten Tieren habe ich immer nur einen einheitlichen Nucleolus gefunden. Der Nucleolus verschwindet zwar auch hier im Laufe der Entwicklung der Cyste, aber in ganz anderer Weise, wie ich unten zeigen werde. Andererseits habe ich die mit einem in Zerfall sich befindenden Nucleolus versehenen Tiere fast ausschließlich in Gesellschaft mit solchen gefunden, die eine angesprochene Kerndegeneration zeigten.

III. Die im folgenden geschilderten Kernveränderungen sind von den früher aufgeführten erstens dadurch verschieden, daß die Kerne sehr hartnäckig das Chromatin in sich bewahren, zweitens dadurch, daß der Nucleolus eine Tendenz, möglichst lange seine Individualität aufrecht zu erhalten, zeigt.

In diesem Falle fangen die Kernveränderungen damit an, daß der Nucleolus nicht mehr vacuolisiert, sondern grobfaserig erscheint und sich unregelmäßig färbt (Fig. 32). Dann verliert auch das Lininwerk seine feinwabige Beschaffenheit und stellt eine faserige Masse dar, deren Fasern der Kernoberfläche parallel verlaufen. Meistens beginnt der Kern zu derselben Zeit von einem Pole aus

sich zu vacolisieren und allmählich sich in ein dem Plasma ähnliches Wabenwerk umzuwandeln. Dabei wird auch der Nucleolus in Mitleidenschaft gezogen (Fig. 33). Die Figur 34 stellt einen weiteren Fortschritt des Vorganges dar. Ungefähr ein Quadrant des optischen Schnittes durch den Kern und den Nucleolus zeigt eine mit dem Protoplasma identische Struktur. Der Rest des Kernes ist durch die persistierende Kernmembran abgegrenzt und stellt ein Wabenwerk mit gröberen und intensiver gefärbten Wabenwänden dar. Dieselben Eigenschaften sind noch bedeutender in dem Überbleibsel des Nucleolus ausgeprägt, infolgedessen sticht der letztere in Form eines gebogenen Streifens von der Umgebung scharf ab. Auf der Figur 35 sieht man noch im Plasma eine Stelle mit etwas verdickten und stärker färbbaren Wabenwänden: es ist der letzte Rest eines auf diese Weise verschwindenden Kernes. Man hätte nie die Bedeutung dieses Gebildes richtig beurteilen können, wenn man nicht die ganze bis zum normalen Kerne hinaufführende Stufenfolge besäße. Es ist klar, daß von den Formen mit den soeben beschriebenen Kernrudimenten bis zu kernlosen Individuen (Fig. 54) nur ein ganz unbedeutender Übergang bleibt.

Der zuletzt angeführte Typus von Kernmetamorphosen scheint besonders reich an Variationen zu sein. Der faserig gewordene Nucleolus kann ganz überraschende Formen annehmen. Als Beispiele sollen die Figuren 36 und 37 dienen. Die erste stellt einen Kern dar, dessen Nucleolus eine dreigeteilte, mit großen Löchern versehene Platte von faseriger Substanz bildet, die zweite — einen Kern mit einem sich der einen Hälfte der Membran anschmiegenden Nucleolus, welcher lange Ausläufer bis zum entgegengesetzten Pole des Kernes ausschickt. Alle solche Kernformen bilden zweifellos den Ausgangspunkt für eine Reihe von Kerndegenerationen, die zur Bildung der kernlosen Tiere führen.

Eine ununterbrochene Reihe von Übergängen führt von degenerierenden Kernen mit einem persistierenden Nucleolus zu solchen, wo dieser von Anfang an nicht mehr zu unterscheiden ist. Besonders oft sind Kerne zu finden, die als rundliche, ein grobes Schwammwerk darstellende und intensiv gefärbte Gebilde erscheinen und von dem sie umgebenden Plasma scharf abgesetzt sind (Fig. 38). Ihre weiteren Veränderungen bestehen darin, daß ihre Struktur und Färbbarkeit immer mehr und mehr denen des Plasmas ähnlich werden, bis wir eine Sachlage, wie die von der Figur 35 bekommen.

Ich will nicht versäumen zu betonen, daß ich bei den in diesem III. Abschnitte beschriebenen Kernumwandlungen, ebenso wie bei

denen des II. Abschnittes niemals die Auflösung des Kernes als solchen, sei es in toto oder nach Zerfall in mehrere Stücke, habe beobachten können. Die Kernsubstanz wird nicht von der Plasmasubstanz verdrängt, sondern die erstere nimmt allmählich die Beschaffenheit der letzteren an. Deshalb sollte man nicht in den angeführten Fällen von „Caryolysis“ oder „Caryorhexis“ nach der Nomenklatur der pathologischen Anatomie sprechen. Als passend betrachte ich dagegen den Ausdruck „Metaplasie“ des Kernes in das Protoplasma, wenn es erlaubt ist, einen für ganze Zellen und Zellkomplexe gewonnenen Begriff für Zellteile anzuwenden.

IV. Die von mir in diesem letzten Abschnitte behandelten Kernveränderungen bieten die interessantesten Bilder, die gleichzeitig am häufigsten bei den beschriebenen drei Arten zu beobachten sind. Es kommt vor, daß man bei Parasiten, welche aus demselben Wirtindividuum stammen, fast keine gewöhnlichen Kerne findet. Die meisten Kerne zeichnen sich durch eine sie umgebende schöne Plasmastrahlung und eine auffallend erhöhte Färbbarkeit des Kerninhaltes aus (Fig. 39 für *Gregarina cuneata*, 46 — *Gr. steini*, 51 — *Gr. polymorpha*). Die Strahlung ist manchmal so zierlich und ausgedehnt, daß sie in dieser Hinsicht den klassischen Archoplasmastrahlungen der Seeigelspindel nicht nachsteht. Man kann sich leicht überzeugen, daß die Strahlungsfigur zustande kommt, indem die senkrecht zur Kernoberfläche angeordneten Wabenwände des Protoplasmas sich verstärken, die parallel zur Kernoberfläche verlaufenden dagegen verschwinden. Die „Strahlen“ scheinen optische Schnitte der zur Kernoberfläche senkrechten Wabenwände zu sein; an dem distalen Ende gehen sie in das gewöhnliche „Plasmareticulum“ über, wie es WILSON (1895) für die Archoplasmastrahlungen der befruchteten Echinodermeneiern dargestellt hat. Der Nucleolus bleibt dabei wohl erhalten und hat nicht nur von seiner Färbbarkeit nichts eingebüßt, sondern er scheint sogar chromatinreicher geworden zu sein. Man kann also im ganzen eine Zunahme des Chromatingehaltes im Kerne konstatieren.

Auf der Oberfläche von solchen strahlenden, hyperchromatischen Kernen scheinen anfangs winzige, dann stärkere Ausläufer sich zu bilden, die wie ein Wald von Protuberanzen in das umgebende Plasma ausstrahlen (Fig. 40). Es sind die „geflamten“ Kerne von WOLTERS (1891). Der Kern verkleinert sich beträchtlich und wird immer färbbarer; die Ausläufer nehmen eine konische Gestalt an, so daß der Kern im ganzen stechapfelförmig aussieht. An Totalpräparaten sind die Konturen des Nucleolus nicht mehr zu unterscheiden.

Nur einige Exkretkörnchen deuten seine frühere Lage in der Mitte des Kernes an (Fig. 41, 49). Das Zusammenziehen des hyperchromatischen Kernes geht weiter vor sich, die Kerngestalt wird unregelmäßig. An der Stelle des Kernes finden wir einen formlosen Chromatinklumpen, der allmählich in kleinere Bröckchen zerklüftet wird (Fig. 42, 50). Auf diese Weise bekommen wir wieder kernlose Individuen, welche zerstreute Chromatinkörnchen aufweisen oder ganz chromatinfrei erscheinen.

Die Kerne, die auf den ersten Stadien der soeben geschilderten Umwandlungen sich befinden, zeigen eine ausgesprochene Neigung, einen Teil der Kernsubstanz in das Plasma abzugeben. Die sich loslösenden Kernpartikelchen haben entweder die Form von kompakten abgerundeten Chromatinkörnchen (Fig. 39), oder erscheinen mehr als unregelmäßige Körperchen, die als Teile von dem mit Chromatin durchtränkten Linienwerk sich erweisen (Fig. 51). In beiden Fällen gleiten sie von dem Kerne den „Strahlen“ entlang fort. Meistens scheinen sie von wenigen kurzen und plumpen, bisweilen wellig verlaufenden, sekundären „Strahlen“ umgeben zu sein.

Es können aber viel größere Teile des Kernes sich ablösen und sich weit von dem Kerne ins Plasma entfernen. Sie sind immer von einer deutlichen Plasmastrahlung umgeben, die dieselbe Natur wie die Strahlung des Stammkernes zu haben scheint (Fig. 47, 52). Als extreme Fälle sind die hervorzuheben, wo der Kern sich in zwei gleich große Hälften zerschnürt. So, z. B., veranschaulicht die Fig. 48 einen solchen Kern bei *Gregarina steini*; der Mutterkern ist nur noch an den Exkretkörnchen des verschwundenen Nucleolus zu erkennen.

Hier wird es vielleicht am Platz sein, von den chromatischen Gebilden im Protomerit zu sprechen, die von einigen Autoren in verschiedener Form beobachtet wurden (s. LÉGER et DUBOSCQ, 1902; LÉGER 1904, 1906). Bei *Gregarina polymorpha* haben dieselben BERNDT (1902) und scheinbar auch BRASS (1883—84) gesehen. Nach meinen Beobachtungen sind sie in der Regel bei den jungen Cephalonten von *Gr. polymorpha* vorhanden (Textfig. B n. C) und bei Individuen derselben Art, die im Begriff sind, einen Epimerit zu regenerieren (Textfig. D—G). Ihre Form kann außerordentlich wechseln. Bald treten sie als unregelmäßige Klumpen auf (Fig. 11 a), bald sind sie in die Länge ausgezogen und bisquitartig, als ob sie in Teilung begriffen wären (Fig. 11 b). Verhältnismäßig oft sieht man sie als rosenkranzförmige Gebilde, die bogen- oder ringartig gestaltet sind (Fig. 11 d—e). Nicht selten treten sie als Körperchen auf, die von einer kurzen Strahlung umgeben sind (Fig. 11 c).

Bis jetzt haben wir keine Kenntnisse über die Herkunft und den morphologischen Wert dieser chromatischen Gebilde. Die oben beschriebenen Vorgänge scheinen indessen doch eine Erklärung derselben zuzulassen. So sehen wir auf der Figur 53 eine *Gr. polymorpha* mit einem in Regeneration begriffenen Epimerit. An dem Septum sind zwei chromatische Körperchen zu sehen. Das eine von denselben bleibt noch jenseits des Septums und steht durch einen langen Faden mit dem strahlenden Kerne in Verbindung, das andere erscheint schon im Protomerit. Die beiden sind von einer Art Strahlung umgeben und von gleicher Beschaffenheit; ebenso stimmen sie mit den soeben von mir beschriebenen, sich von den strahlenden Kernen ablösenden Körperchen überein. Es ist zweifellos, daß das sich im Protomerit befindende Körperchen eine mit diesen gleiche Herkunft hat.

Im Deutomerit scheinen die vom Kerne auf die geschilderte Weise abgelösten Teile, das Chromatin in Form von Körnchen abzugeben und schließlich zu verschwinden. Wenigstens habe ich manchmal solche Körperchen, aber ganz blaß und von einem Hof von Chromatinpartikelchen umgeben, im Plasma liegend gefunden. Im Protomerit von primären oder regenerierten Cephalopoden scheinen sie längere Zeit zu bleiben. Da sie sonst im Protomerit meistens fehlen, scheinen sie dort ebenfalls aufgelöst zu werden.

Bei den in den drei ersten Abschnitten beschriebenen Degenerationsumwandlungen des Kerns findet man im Durchschnitt alle Stufen der Kernveränderungen ungefähr in gleicher Anzahl — von den Anfangsstadien an bis zu den kernlosen Formen. Merkwürdigerweise ist das nicht der Fall bei den zuletzt beschriebenen Kernumwandlungen. Die strahlenden, stark chromatischen Kerne sind auffallend oft zu beobachten. Die Individuen mit stechapfelförmigen und verklumpten Kernen und die kernlosen Tiere bilden dabei immer die ausgesprochene Minderzahl. Ich glaube, diese Tatsache ist damit zu erklären, daß der betreffende Prozeß auf den ersten Stadien meistens wieder rückgängig wird. Die strahlenden Kerne scheinen die Fähigkeit zu haben, sich wieder in einen Ruhezustand zu versetzen. Es wird auch dadurch bewiesen, daß strahlende Körperchen manchmal im Plasma von Tieren mit gewöhnlichem Kerne zu finden sind; der letztere ist wahrscheinlich vor kurzer Zeit strahlend gewesen und hat in diesem Zustande die erwähnten Körperchen abgelöst. Die Wiederherstellung des normalen Zustandes scheint durch die Vermittlung eines amöboiden Stadiums erreicht zu werden. Wenigstens habe ich nicht selten gefunden, daß die amöboiden Kerne,

die oben unter den vegetativen Kernveränderungen schon beschrieben wurden, bei Individuen anzutreffen waren, die mit solchen Individuen zusammen aufgefunden wurden, welche strahlende oder geflammte Kerne besaßen. In solchen Fällen zeigten oft die amöboiden Kerne eine ausgesprochene Hyperchromasie.

Die strahlenden Kerne scheinen eine ganz besonders ausgesprochene Tendenz zu besitzen, sich mit dem Ectoplasma in Verbindung zu setzen. So konnte ich häufig beobachten, daß der strahlende hyperchromatische Kern an dem bekanntlich ectoplasmatischen Septnm hing (Fig. 45). Etwas seltener kommen die betreffenden Kerne mit dem Ectoplasma in Berührung, das der Pellicula anliegt. Die Fig. 44 stellt einen solchen hyperchromatischen amöboiden Kern dar. Ähnliche Bilder sind von DRZEWECKI (1903) gesehen worden, wie z. B. seine Fig. 21 darstellt. Es sei hier noch auf die Befunde von SIEDLECKI (1905) hingewiesen, der den vorübergehenden Zusammenhang des Kernes mit der Körperperipherie bei einer Coccidie (*Caryotropha mesnili*) im vegetativen Zustande beobachtet hat.

Die strahlenden Kerne können außerdem verschiedenen anderen degenerativen Prozessen unterliegen, die sich meistens in der für den II. Abschnitt charakteristischen Richtung abspielen. So zeigt die Fig. 43 einen im Anfang von Degeneration dieser Art begriffenen Kern mit noch deutlicher Strahlung.

Wir haben gesehen, daß jede von den vier von mir unterschiedenen Reihen von Kernumwandlungen zur Bildung von kernlosen Individuen führt (Fig. 54, 55, 57). Einige von denselben zeigen eine ganz normale äußere Form und Plasmabeschaffenheit. Daneben findet man aber immer eine Anzahl zweifellos im Absterben sich befindender Tiere. Der aufgeblasene Körper, die geschrumpfte Pellicula, das ungewöhnlich stark lichtbrechende, ganz farblose Plasma sind unzweideutige Zeichen davon (Fig. 56). Endlich sind von Zeit zu Zeit ganz leere Pelliculae von Gregarinen zu finden. Es scheint zweifellos zu sein, daß wir hier eine ansehnliche Sterblichkeit von Gregarinen, und zwar in kernlosem Zustande vor uns haben.

Ich habe mir die größte Mühe gegeben, experimentell die Bedingungen zu finden, unter denen die besprochenen Kernumwandlungen zustande kommen. Es ist mir leider nicht gelungen, irgendetwelche sichere Resultate zu bekommen. Ich habe sowie in der Wärme, als auch in der Kälte die Mehlwürmer kultiviert und Hungerkulturen angesetzt. Aber diese veränderten Existenzbedingungen haben zu keinen wesentlichen Schwankungen des schon unter nor-

malen Verhältnissen sehr hohen Prozentgehaltes an Kerndegenerationen geführt und lassen somit keine positiven Schlüsse nach dieser Richtung zu. Bei hungernden Tieren schwinden, wie es schon von BERNDT (1902) konstatiert wurde, die Parasiten im Laufe von einigen Wochen. Der Durst (gut ausgetrocknetes Futter) scheint denselben Einfluß auszuüben. Ich glaube, daß die Parasiten teilweise in encystiertem Zustande aus dem Darne entleert werden, teilweise unter Degenerationserscheinungen aussterben, da ich in solchen Fällen Cysten sowie degenerierende Tiere reichlich gefunden habe.

Einiges Interesse scheinen mir Gesetzmäßigkeiten zu bieten, die ich schon unter gewöhnlichen Bedingungen (Zimmertemperatur und reichliche Fütterung) beobachten konnte. 1. Je mehr Parasiten ein Mehlwurmdarm beherbergte, desto sicherer konnte man sein, Gregarinen mit Kerndegenerationen darin zu finden. Die reichlichste Ausbente für das Studium der Kerndegenerationen läßt sich aus den Gregarinenpfropfen gewinnen, d. h. aus dichten Ansammlungen von Parasiten, die sich an verschiedenen Stellen des Darmtractus bilden. Umgekehrt, bei ganz spärlicher Gregarinenbevölkerung sind fast immer nur Tiere mit normalen Kernen anwesend. 2. Die Kerndegenerationen treten beinahe nie vereinzelt auf. Man kann gewissermaßen von „Epidemien“ sprechen, da meistens die Mehrzahl von den Individuen aus demselben Darne auf verschiedenen Stadien von beschriebenen Kernumwandlungen sich befanden. Wenn zwei oder drei Arten dabei gleichzeitig sich finden, sind sie oft alle in Kerndegenerationen begriffen. 3. Die reichliche Cystenbildung fällt sehr häufig mit dem Auftreten von Kerndegenerationen bei Tieren aus demselben Darne zusammen.

Die drei soeben angeführten Gesetzmäßigkeiten stellen nichts Ausnahmloses dar, und manche Fälle scheinen mit ihnen in Widerspruch zu stehen. Indessen je zahlreicher meine Beobachtungen waren, desto klarer trat ihre allgemeine Gültigkeit hervor.

Meine Auffassung der von mir beobachteten und in diesem Kapitel beschriebenen Tatsachen ist schon aus dem Kapiteltitel zu ersehen. Ich habe sie für „degenerative Vorgänge“ gehalten. Es wird meine nächste Aufgabe sein, diesen Standpunkt zu prüfen. Haben wir es wirklich mit degenerativen Prozessen zu tun, d. h. mit solchen, die als Ausdruck einer Erschütterung der normalen Lebenstätigkeit der Zelle gelten können und die in letzter Instanz zum Tode derselben führen?

Vor vier Jahren wurde eine Arbeit von DRZEWECKI (1903) veröffentlicht, die denselben Gegenstand behandelte, d. h. die Kernumwandlungen bei den Gregarinen im vegetativen Zustande. Als Untersuchungsmaterial dienten dabei drei *Monocystis* aus dem Regenwurmhoden — *magna*, *agilis* und *porrecta*. Da diese Arbeit mit meinen oben dargestellten Beobachtungen sehr viele Berührungspunkte hat, werde ich ihre Hauptergebnisse hier kurz wiedergeben.

Auf Grund von seinen Untersuchungen ist der Verfasser zur Annahme gekommen, daß im Laufe des Wachstums der *Monocystis* von *Lumbricus* der Kern wiederholt aufgelöst und ein neuer Nucleus, ganz unabhängig von seinem Vorgänger wieder gebildet wird. Inzwischen befindet sich das Tier in einem Zustande, wo nicht nur kein Kern, sondern auch keine Chromatinpartikelchen im Protoplasma zu konstatieren sind. Obgleich DRZEWECKI Schritt für Schritt den Prozeß an konserviertem Material beobachtet zu haben glaubt, scheint er doch über seine Bedeutung im Zweifel zu sein. Wenigstens finden wir in seiner Zusammenfassung den folgenden Passus: „Ist das (d. h. völliger Schwund des Kernes) eine echt pathologische, zum Tode des Tieres führende Erscheinung oder der höchste, selten vorkommende Grad der Reorganisation des Kernes. Mich will das letztere wahrscheinlicher dünken, doch lasse ich es dahingestellt sein, bis weitere Untersuchungen einen sicheren Anlaß zur Entscheidung dieser Frage geben.“

Die Angaben von DRZEWECKI wurden bis jetzt eher mit Skepsis aufgenommen (LÜHE 1904; GOLDSCHMIDT 1905a). Die von mir an Gregarinen des Mehlwurms gemachten Beobachtungen geben mir Veranlassung, mich bezüglich der von dem erwähnten Verfasser angeführten Tatsachen und deren Deutung zu äußern. In einem wichtigen Punkte stimmen unsere Beobachtungen überein: es kommt auf den verschiedenen Stadien des Wachstums der Gregarine zum allmählichen Schwunde des Kernes und zur Bildung von Individuen ohne Nucleus, bisweilen sogar ohne Chromatinpartikelchen im Plasma. Freilich, der jeweilige Vorgang hat einen ganz verschiedenen Verlauf in den beiden von uns untersuchten Fällen, wie aus dem Vergleich unserer Figuren am besten zu sehen ist; aber die Unterschiede scheinen mir keine prinzipielle Bedeutung zu haben und auf die Verschiedenheit der Organisation und Existenzbedingungen der von uns untersuchten Gregarinen zurückzuführen zu sein.

In einem viel schärferen Widerspruch stehen unsere Angaben über das weitere Schicksal der kernlosen Tiere. Nach DRZEWECKI sollen sich in denselben neue Kerne aus den im Plasma entstehenden

Chromidien bilden; ich glaube den Untergang der kernlosen Individuen feststellen zu können. Dementsprechend stellt das Verschwinden der Kerne für DRZEWECKI einen normalen vegetativen, sich wiederholenden Vorgang, für mich — einen degenerativen Prozeß dar.

Zugunsten meiner Auffassung scheinen mir folgende Tatsachen zu sprechen. Die von mir oben beschriebenen Erscheinungen verlaufen nie mit der Regelmäßigkeit, die sonst für die normalen Entwicklungsvorgänge charakteristisch ist. Zwar können wir einzelne Stadien von Umwandlungen unterscheiden und sie in ununterbrochenen Reihen verfolgen. Diese sind aber immer nur eine Abstraktion. Einerseits sind diese Reihen nie scharf voneinander abgegrenzt, andererseits können nicht alle Kernmodifikationen, die überhaupt auftreten, in sie eingegliedert werden. Kurz und gut — die in Frage gestellten Erscheinungen zeigen eine Mannigfaltigkeit, die immer für pathologische Vorgänge bezeichnend ist, wo infolge der herabgesetzten Lebenstätigkeit der Zelle auch die Einrichtungen gestört sind, die regulierend auf die Lebensprozesse wirken.

Die regelmäßige Anwesenheit von zweifellos absterbenden Tieren (aufgeblasener Körper, geschrumpfte Pellicula, glashelles Plasma) in Kulturen, wo derartige Kernumwandlungen zu konstatieren sind, scheint auch für meine Deutung der Tatsachen zu sprechen. Dabei befinden sich die absterbenden Tiere entweder in kernlosem Zustande oder auf verschiedenen Stadien des Kernverschwindens.

Ich habe versucht durch eine große Zahl von Messungen eine Abhängigkeit zwischen der Körpergröße der Tiere und den bei ihnen vorhandenen Kernumwandlungen zu finden, aber vergeblich. Zwar sind einige Erscheinungen für kleine Tiere charakteristisch (II. Reihe von Kerngenerationen), gehören aber ebenso gut bei ganz erwachsenen syzygierenden Sporonten nicht zu den Seltenheiten. Daraus schließe ich, daß wir es, wenigstens in dem von mir beobachteten Falle, mit keinen für gewisse Entwicklungsstadien bezeichnenden Kernumwandlungen zu tun haben.

Trotz aller Mühe war ich nicht imstande, einen Prozeß zu finden, den ich als eine Neubildung eines Kernes aus Chromidien im vegetativen Zustande deuten könnte. In Anbetracht der ungeheuren Menge des von mir untersuchten Materials, glaube ich mit gewisser Berechtigung das Vorkommen eines solchen Prozesses leugnen zu dürfen. Es ist zwar immer bedenklich, die für eine Tierart gewonnenen Resultate auch auf andere anzuwenden. Ich glaube indessen, daß die Ergebnisse von DRZEWECKI über die Kernrekonstruktion bei *Monocystis* zum mindesten zu bezweifeln sind. Ich halte es

für sehr wahrscheinlich, daß die von dem Verfasser zusammengestellten Serien von Dauerpräparaten, die eine Kernneubildung veranschaulichen sollen, in entgegengesetzter Richtung als der Autor angibt, zu kombinieren sind. Dementsprechend würden sie auch einen degenerativen Prozeß darstellen.

Was nun die Ursache der in Frage stehenden degenerativen Erscheinungen betrifft, so ist sie aus den Beobachtungen an den Gregarinen selbst kaum zu erschließen. Die Schwierigkeiten liegen in der Natur des Untersuchungsobjekts. Jede Kultur besteht aus dem Darminhalte eines Mehlwurms. Man kann keine Stichproben untersuchen, ohne das Wirtstier zu töten. Und das weitere Verfolgen der Kultur in einer feuchten Kammer würde keine sicheren Resultate geben, da die Existenzbedingungen für die aus dem Wirt herausgenommenen Parasiten zu unnatürlich sind. Man ist also auf den Vergleich mit analogen Vorgängen bei anderen Protozoen angewiesen, die sich in dieser Beziehung als viel geeignetere Untersuchungsobjekte gezeigt haben und die daher auch Gegenstand von experimentellen Beobachtungen im Leben gewesen sind. In erster Linie sind die grundlegenden Arbeiten von R. HERTWIG zu besprechen.

Infolge von Beobachtungen an Infusorien (1899a, 1903) und *Actinosphaerium* (1900, 1904) ist der Verfasser zu der Ansicht gekommen, daß jede Protozoenzelle bei gewissen Bedingungen in einen Zustand gerät, den er mit dem von CALKINS (1902) entliehenen Ausdruck „Depression“ bezeichnet. Der Depressionszustand wird charakterisiert physiologisch durch das vorübergehende oder definitive Anfhören der Hauptfunktionen des Tieres (Nahrungsaufnahme, Bewegung, Teilung), morphologisch — durch Veränderungen in der äußeren Körperform und durch eine Reihe von Kernumwandlungen. Als Ursache des Depressionszustandes wird von dem Verfasser eine Störung der für die betreffende Zelle sonst charakteristischen „Kernplasmarelation“ angesehen. Diese Störung ist durch einen übermäßigen Zufluß von Chromatinpartikelchen zum Kern hervorgerufen, die sich im Plasma bei einer gesteigerten und ununterbrochenen Funktion (z. B. überreiche Fütterung) bilden. Darauf folgendes Hungern begünstigt das Auftreten der Depression, indem die Kernplasmarelation durch die Verminderung der Plasmamasse noch vergrößert wird. Durch rechtzeitige Elimination eines Teiles der Kernsubstanz kann die normale Kernplasmarelation wieder erreicht und der Depressionszustand beseitigt werden.

Als Grundpfeiler der angeführten theoretischen Betrachtungen sind folgende Tatsachen anzuführen: die Bildung der Riesen- und der hypertrophischen Kerne sowie deren nachheriges Ausstoßen bei Überfütterung von *Actinosphaerium* (1904) und die Hyperchromasie des Macronucleus und dessen Zerfall bei unter ähnlichen Verhältnissen gezüchteten Infusorien (*Paramecium* 1899 a; *Dileptus* 1903).

Einige von anderen Forschern beobachtete Vorgänge scheinen mit den Anschauungen von R. HERTWIG über das Wesen der Depression im besten Einklang zu stehen. So können als Beispiele von erfolgreicher Regulation der Kernplasmarelation der erneuerte Aufschwung von Lebenstätigkeit bei Malariaparasiten nach der Elimination eines Teiles der Kernsubstanz (SCHAUDINN 1902 b; Deutung von R. HERTWIG 1907) und ein ähnlicher Vorgang bei *Trypanoplasma* (KEYSSELITZ 1906) dienen. Als Versuch zu einer solchen Regulation sei die Abgabe von Kernteilen aus dem Macronucleus bei den hungernden Paramäcien (KASANZEFF 1901) angeführt. Hyperchromasie des Kernes bei in Depression begriffenen Amöben wurde von PRANDTL (1907) beobachtet und desgleichen bei hypotrichen Infusorien von WOODRUFF (1906), wie seine Tafelfiguren auf unzweideutigste Weise schließen lassen.

Fälle von Hyperchromasie des Kernes scheinen auch bei der physiologischen Degeneration der Gewebszellen vorzukommen. Die degenerierenden Epithelzellen der GRAAF'schen Follikel bei Kaninchen (FLEMMING 1885; s. Taf. X, Fig. 4; Taf. XI, Fig. 16), die degenerierenden Samenzellen bei *Salamandra* (FLEMMING 1887; s. Taf. XXV, Fig. 51 a—c), die scheinbar eine ähnliche Bedeutung habenden „Zwischenkörper“ des *Ascaris*-Hodens (O. HERTWIG 1890; s. Taf. II, Fig. 35 a—f) weisen eine ausgesprochene Hypertrophie der Kernsubstanz auf, wie aus den zitierten Abbildungen zu schließen ist.

Ich glaube, daß meine IV. Reihe von Kerndegenerationen sich sehr gut, nach der Analogie mit den angeführten Tatsachen, als Ausdruck eines Depressionszustandes oder „physiologischer Degeneration“ auffassen läßt. Das Auftreten von einer Hyperchromasie der Kerne, Pyknosis und Zerfall in einigen Fällen und wahrscheinliche Wiederherstellung der Tiere durch Elimination von dem Kerne eines Teiles seiner Substanz in anderen Fällen, scheinen sehr dafür zu sprechen.

Meine drei ersten Reihen von Kerndegenerationen lassen sich viel schwerer vom Standpunkte der zitierten Theorie aus erklären. Entweder ist bei Beginn des Prozesses keine merkliche Zunahme der Chromatinmasse zu konstatieren (III. Reihe) oder es scheint gleich

zu einer Verminderung der Kerngröße (I. Reihe) oder wenigstens des Chromatingehaltes des Kernes (II. Reihe) zu kommen. Sollen wir in diesem Falle dem Prozesse eine ganz andere Bedeutung zusprechen? Ein solcher Schluß wäre, nach meiner Meinung, ziemlich gezwungen. Ich habe schon gesagt, daß in Wirklichkeit alle Reihen von Kernveränderungen ineinander übergehen können. Sie treten häufig in denselben Kulturen auf und stellen, aller Wahrscheinlichkeit nach, nur verschiedene Modifikationen desselben Vorganges — der physiologischen Degeneration — dar.

Andere Forscher haben auch schon Kerndegenerationen beobachtet, die von keiner Hyperchromasie begleitet waren, und zwar in Fällen, wo ein Depressionszustand der Zelle wahrscheinlich vorhanden war. Eine Hyperchromasie und sogar eine Achromasie der Kerne wurde von R. HERTWIG (1904) bei *Actinosphaerium* beobachtet, und zwar in einer Kultur „welche sich lange Zeit über durch ganz besondere Assimilations- und Vermehrungsenergie ausgezeichnet hatte“ (S. 343), also vor einem Depressionszustande stehen konnte. PRANDTL (1907) hat auch in den, allem Anscheine nach, sich in Depressionszustande befindenden Kulturen von *Amoeba proteus* neben den Tieren mit hyperchromatischen Kernen solche gefunden, die in Degeneration begriffene hypochromatische und achromatische Nuclei hatten. In dieselbe Kategorie von Tatsachen sind die von PRITZNER (1886) zusammengestellten Fälle einzureihen, wo bei der physiologischen Degeneration der Gewebszellen der höheren Tiere eine Chromatinarmut zu konstatieren ist. Die hypochromatischen Kerne in den Carcinomen (PIANESE, s. R. HERTWIG 1904) sind hier auch zu nennen. Indessen lassen sich derartige Befunde vorläufig noch nicht von R. HERTWIG's theoretischem Standpunkte über das Wesen des Depressionszustandes aus erklären. Weitere ausgedehnte experimentelle Untersuchungen an geeigneten Objekten aus verschiedenen Protozoengruppen werden zeigen, ob der Widerspruch nur scheinbar ist. Jedenfalls werden die Beobachtungen an Parasiten nie in dieser Frage entscheidend sein, da ihre Lebensbedingungen zu kompliziert sind und die auch bei ihnen zweifellos vorhandenen Depressionsvorgänge durch schwer kontrollierbare Einflüsse (Reaktion des Wirtorganismus, Autointoxikation durch eigene Stoffwechselprodukte bei reichlicher Infektion usw.) stark modifiziert sein können.

Zum Schluß dieses Kapitels möchte ich mich noch über die mögliche Bedeutung der strahlenden und „flamgenden“ Kerne aussprechen. Die Strahlung um einen nicht in Teilung begriffenen

Kern wurde schon vielfach für andere Objekte beschrieben. An unreifen Eiern haben dieselbe LEYDIG (Gasteropoda, 1876; *Phalangium*, 1888), KORSCHULT (*Antedon rosacca*, 1889), VAN BAMBEKE (*Pholcus phalangioides*, 1898), LEBRUN (*Rana temporaria*, *Bufo vulgaris*, 1901), KING (*Bufo lentiginosus*, 1901) gesehen. Von R. HERTWIG (1896) und MORGAN (1900) wurde eine solche Strahlung an mit Strychnin behandelten Seeigeleiern beobachtet. PRANDTL (1906) hat eine ähnliche Erscheinung an den ♀ und ♂ Pronuclei bei dem Infusorium *Didinium nasutum* festgestellt.

Auffallenderweise sind Strahlungen um einen ruhenden Kern meistens in den Fällen zu beobachten, wo die Zelle für eine rege Teilung in der Zukunft bestimmt ist, vorläufig aber, aus noch unbekannten Gründen, für eine längere Zeit die Teilungsfähigkeit eingebüßt zu haben scheint (Eier, Gregarinen). Bei den strychninisierten Seeigeleiern sind wie die ruhenden strahlenden Kerne, so auch typische Spindeln gefunden worden (R. HERTWIG, 1896; MORGAN 1900; WASSILJEFF, 1902). Ich selbst habe die Gelegenheit gehabt, an den mit einer schwachen Strychninlösung behandelten Seeigeleiern alle Übergänge von einem „ruhenden“ strahlenden Kern zu einer Spindel mit Polarstrahlungen zu verfolgen. Es läßt sich nun fragen, ob überhaupt die Strahlung um einen „ruhenden“ Kern sich nicht auf prinzipiell gleiche, aber viel schwächer wirkende Ursachen zurückführen läßt, wie die Spindel mit Polarstrahlungen. Dann wäre vielleicht die erstere als Ausdruck eines mißlungenen Teilungsversuches anzufassen. Für eine solche Deutung des Vorganges scheint die Neigung der strahlenden Kerne der Gregarinen zu sprechen, sich zu parzellieren und manchmal sogar in zwei gleiche Hälften zu zerschnüren. Von diesem Standpunkte aus wäre die häufig vorkommende Verbindung der strahlenden Kerne mit dem Ectoplasma als Tendenz zu verstehen, sich von dem mit Reservestoffen überladenen Entoplasma loszumachen.

Die „flammenden“ Kerne wurden bei nicht encystierten Sporonten von WOLTERS (*Monocystis* des *Lumbricus*, *Clepsidrina blattarum*, 1891), DRZEWECKI (*Monocystis* des *Lumbricus*, 1903), PAEHLER (*Gregarina ovata*, 1904) gesehen. Ich habe ihren genetischen Zusammenhang mit strahlenden Kernen bei den Mehlwurmgregarinen feststellen können, wie oben dargestellt wurde. Auch sonst sind Fälle bekannt, wo dasselbe Gebilde nicht nur bei verschiedenen, sondern auch bei denselben Tieren bald als strahlend, bald als „flammend“ sich wahrnehmen läßt. So sind die im Laufe der Spermatogenese bei *Ascaris megalocephala* auftretenden Archoplasmasphären von O. HERTWIG

(1890) meistens als „flammende“, von BRAUER (1893) als strahlende Gebilde auf den Figuren dargestellt.

Es sei hier noch erwähnt, daß WOLTERS den Gedanken ausgesprochen hat, die „geflamnten“ Kerne seien Spindeln, die von dem gewohnten Typus abweichen.

Die germinativen Vorgänge bei *Gregarina cuneata*.

Meine Hauptaufgabe bei diesem Teil meiner Untersuchungen war, möglichst vollständig die ersten Kernveränderungen zu verfolgen, die zur Bildung der Gametenkerne aus den zwei Mutterkernen der Syzygiten führen. BERNDT (1902), der den Entwicklungscyclus von derselben Gregarine schon verfolgt hat, stellt die Sache folgendermaßen dar. Der Kern fängt an zu flammen, löst sich in kleine Stückchen auf und wandert nach der Peripherie der Cyste. Der Nucleolus bleibt dabei liegen und zerfällt. Unterwegs entwickeln sich aus den Kernstückchen primitive mitotische Figuren, und dann findet eine Teilung derselben statt. So werden die Kerne der Sporoblasten gebildet. Es träten also im Laufe der Bildung derselben nach einer „multiplen“ Teilung mitotische Teilungen auf.

Bei den meisten anderen ausführlich untersuchten Gregarinen wurden von verschiedenen Forschern klare Primärspindeln beobachtet (MRÁZEK bei *Monocystis* aus *Rhynchelmis*, 1899; SIEDLECKI bei *Monocystis ascidiae*, 1899a; CUÉNOT, 1900, PROWAZEK, 1902. BRASIL, 1905 — bei *Monocystis* aus *Laubricus*; CUÉNOT bei *Diplocystis*, 1900; LÉGER et DUBOSCQ bei *Pterocephalus*, 1903; LÉGER bei *Stylorhynchus*, 1904a; SCHNITZLER bei *Clepsidrina ovata*, 1905; LÉGER bei *Ophryocystis*, 1907). Es schien daher nicht ausgeschlossen zu sein, daß eine einheitliche Mutterspindel bei *Gregarina cuneata* von BERNDT übersehen worden war, was schon PAEHLER (1904) hervorgehoben hat. Meine auf diesen Punkt besonders gerichteten Untersuchungen scheinen die Angaben von BERNDT insofern zu bestätigen, als ich, ebensowenig wie er, eine primäre Spindel finden konnte. Dabei bin ich jedoch zu einer ganz anderen Auffassung des ganzen Vorganges, der Entstehung der Gametenkerne aus den Mutterkernen, gekommen.

Auf die von BERNDT ganz richtig und ausführlich beschriebenen Erscheinungen der Encystierung brauche ich nicht weiter einzugehen. Was die Kerne der in der Cyste vereinigten Individuen anbetrifft, so sehen sie genau wie ruhende Kerne von freien Sporonten aus, wie die Fig. 65 es zeigt. Die Kernmembran ist ganz deutlich, der Nucleolus chromatinreich und mäßig vacuolisiert, das Kerngerüst

mit verhältnismäßig spärlichen, feinen Chromatinkörnchen durchsetzt. Die Kerngröße habe ich dabei in diesen Anfangsstadien beträchtlicher gefunden als bei den Sporonten, was mit den Angaben von BERNDT in Widerspruch steht.

Die Metamorphosen des Kernes werden durch die Wanderung desselben zur Peripherie der Cyste eingeleitet. Schon unterwegs ist der Kern tiefgreifenden Umwandlungen unterworfen. Der Nucleolus entfärbt sich allmählich und wird desorganisiert, so daß er als eine farblose durch stark lichtbrechende Stränge durchzogene Vacuole erscheint, in deren Innerem wir einen Haufen der schon oben erwähnten Exkretkörnchen finden. Das Caryoplasma ist entsprechend chromatinreicher geworden; das Chromatin scheint aber in gelöstem oder fein zerstäubtem Zustande zu sein, da keine färbbaren Körnchen wahrnehmbar sind. Die Kernmembran verschwindet, und der Kern wird geflammt. Einen so veränderten, schon dicht unter dem Ectoplasma der Cyste liegenden Kern sehen wir auf der Fig. 66 dargestellt. Sein Volumen hat beträchtlich abgenommen.

Sobald der so veränderte Kern das Ectoplasma erreicht hat, entsteht an der entsprechenden Stelle der Cystenoberfläche eine tiefe trichterförmige Einsenkung. Der Boden derselben wird von dem immer noch flammenden Kerne gebildet, der unterdessen eine innige Beziehung zum Ectoplasma bekommen hat (Fig. 67). Schon auf diesem Stadium kann man sehen, daß die Wabenwände der peripheren Plasmaschichten in der Nähe des Kernes im Verhältnis zu den übrigen verdickt und färbbarer geworden sind. Von dem Nucleolus ist nichts mehr im Kerne zu sehen.

Gerade in dem zuletzt beschriebenen Zustande befinden sich die meisten (wenigstens 70 Proz.) aus dem Darms des Mehlwurms entnommenen Cysten. Es fragt sich, wie konnte BERNDT trotzdem dieses so charakteristische Stadium vollständig übersehen? Daran mag der Umstand schuld sein, daß er keine guten, unter dem Deckgläschen bewegbaren Cystentotalpräparate untersucht hat. An Schnitten läßt sich die Sachlage in diesem Falle nur dann gut verstehen, wenn die Schnittfläche der langen Achse der oben beschriebenen Einsenkung parallel verläuft. Dabei ist man natürlich auf einen günstigen Zufall angewiesen, der nur bei einer sehr großen Zahl von auf diese Weise untersuchten Cysten zu erwarten ist. Dagegen ist das entsprechende Bild sehr leicht beim Rollen einer in Nelkenöl beobachteten Cyste auf dem optischen Schnitte zu bekommen.

Die bis jetzt beschriebenen Veränderungen in der Cyste sind nicht am lebenden Objekt zu sehen. Die mit Reservestoffen dicht

gefüllte Cyste erscheint als eine dunkle Kugel, durch einen lichterem Streifen (die Scheidewand) in zwei Hälften geteilt. Ihre Oberfläche zeigt eine charakteristische Zeichnung, die durch die netzförmige Anordnung der Paraglykokörner bedingt ist (Fig. 59).

Im weiteren Verlaufe des Prozesses wird die Einsenkung an der Cystenperipherie immer flacher und breiter; die Trichterform geht in die Schüsselform über. Der Kern breitet sich auch beträchtlich dabei aus. Die Wabenwände der äußeren Schicht des Plasmas gewinnen in der Umgebung des Kernes immer mehr und mehr an Dicke und Färbbarkeit (Fig. 68). In einem kurz darauf folgenden Stadium ist der Kern nicht mehr zu sehen. Man bekommt den Eindruck, als ob er in die periphere Plasmaschicht allmählich aufgenommen wurde, indem er derselben einen besonderen Charakter dabei verleiht. Das auf diese Weise entstandene Stadium ist in hohem Maße interessant. Die Scheidewand ist meistens verschwunden. Keine Spnr von einem Kern ist auch bei sorgfältigster Durchmusterung von tadellosen Schnittserien zu finden. Dafür hat die ganze periphere Plasmaschicht der Cyste eine eigentümliche Beschaffenheit angenommen. Sie stellt ein Wabenwerk mit sehr massiven Wabenwänden dar, so daß man manchmal den Eindruck gewinnt, als hätte man eine homogene, mit kleinen Alveolen durchsetzte Substanz vor sich. Dieselbe zeigt eine starke Affinität zu den Chromatinfarbstoffen (Borax-Karmin, Hämatoxylin nach DELAFIELD). Doch sind dabei keine Strukturen, sowie keine Chromatinkörnchen zu entdecken. Bei Anwendung der E. H.-Färbungsmethode bekommt man auf den Schnitten entweder einen einheitlichen schwarzen Saum, oder, bei fortgesetztem Anziehen gibt dieser den ganzen Farbstoff wieder ab, ohne daß man Spuren von geformtem Chromatin finden könnte. Dabei sei bemerkt, daß der betreffende Saum im letzteren Falle viel schneller entfärbt wird als die Chromatinkörnchen anderer Cysten, welche sich eventuell auf demselben Objektträger befinden. Der chromatische Saum ist zwar wegen seiner Beschaffenheit und Färbbarkeit ziemlich scharf von dem übrigen Protoplasma abgesetzt, steht aber mit ihm in kontinuierlicher Verbindung, indem seine Waben direkt in die des Plasmas übergehen (Fig. 69).

Dieses Stadium läßt sich auch am lebenden Objekt erkennen. Nach einem 20stündigen¹⁾ Aufenthalt in einer feuchten Kammer

¹⁾ Die Zeitangaben können keinen Anspruch auf Genauigkeit machen, da das Ausgangsstadium verschieden sein kann und in frischem Zustande meistens nicht genau zu definieren ist. Ferner ist die Entwicklungsgeschwindigkeit sehr von der Temperatur abhängig.

(bei Zimmertemperatur) zeigen die Cysten meistens im optischen Schnitte das Auftreten eines hellen, ringsum verlaufenden Saumes, der von dem dunkleren inneren Teil der Cyste sich abhebt. Er wird immer breiter und erreicht gewöhnlich gegen die 40. Stunde seine maximale Ausdehnung. Bei der Untersuchung dieses Saumes mit stärkeren Vergrößerungen gewinnt man zuerst den Eindruck, daß man die Gametenbildung vor sich habe, da runde Körperchen im Saume ganz deutlich hervorzutreten scheinen. Und man ist ganz erstaunt, die betreffenden Gebilde an gefärbten Präparaten nicht mehr zu finden. Durch wiederholte Beobachtungen läßt sich das Rätsel aufklären. In Wirklichkeit haben wir auf diesem Stadium das oben nach gefärbten Präparaten beschriebene Wabenwerk. Da aber die Wabenwände aus einer sehr stark lichtbrechenden Substanz bestehen, treten mehr die schwächer lichtbrechenden Wabeninhalte hervor, die dunkle rundliche Körperchen vortäuschen. Dieses Stadium ist nach dem Leben auf der Fig. 60 dargestellt. Dabei muß man aber die Helligkeitswerte umgekehrt sich denken, entsprechend einem photographischen Negativbilde, so daß in der Wirklichkeit die Wabenwände des Saumes nicht dunkler, sondern heller als die Wabenlumina erscheinen.

Es fragt sich nun, wie ist das chromatische Gebilde aufzufassen, welches die äußere Schicht des jetzt einheitlichen Cystenkörpers bildet. Es ist kein Zweifel, daß wir es mit einem Chromidialapparat zu tun haben. Die Ähnlichkeit des von mir in der Fig. 69 dargestellten Stadiums mit gewissen Zuständen, wie sie bei Rhizopoden beschrieben worden sind, ist nicht zu verkennen. Zuerst wollen wir uns dem Objekt zuwenden, bei dem der Begriff „Chromidium“ eingeführt wurde. Die auf der Fig. 1 (Taf. XXXVII) der Arcellaarbeit von R. HERTWIG (1899b) dargestellte Chromidialmasse wird zwar von dem Verfasser ein „Netz“ genannt, kann jedoch wohl als ein Wabenwerk aufgefaßt werden, dessen Wände im Vergleich mit denen des Plasmagerüsts verdickt und chromatinhaltiger sind. Da in diesem angeführten Falle auch keine Chromatinpartikelchen zu unterscheiden sind, können wir dieses Chromidium bei *Arcella* direkt mit dem der Gregarinencyste vergleichen. Noch mehr Ähnlichkeit scheint die Beschaffenheit des von mir beobachteten Chromidialsaumes mit der Struktur der Chromidialsubstanz von *Diffugia* zu sein, wie es ZUELZER (1904) bei Tieren im Frühling und während der „Conjugation“ in Fig. 1 c der Taf. X und 1 b, 1 c der Taf. XI abbildet.

Ich habe bis jetzt die Kernmetamorphosen in der Cyste so be-

schrieben, wie sie sich in den meisten Fällen abspielen. Viel seltener habe ich die folgende Abänderung des Prozesses gefunden. Anstatt sich als Ganzes nach der Cystenperipherie zu begeben, zerfällt der flammende Kern, nachdem der Nucleolus sich auf die oben beschriebene Weise rückgebildet hat, in viele unregelmäßige Stücke, die ihrerseits sich zerschnüren können, wie auf der Fig. 70 zu sehen ist. Bisweilen konnte ich eine ausgesprochene Hyperchromasie des Stammkernes am Anfange des Prozesses konstatieren. Überhaupt scheint der Vorgang der Kernparzellierung im vegetativen Zustande (s. den IV. Abschnitt des vorigen Kapitels) sehr ähnlich zu sein. Die Kernstücke begeben sich zur Peripherie der Cyste, wo sie als chromatische unregelmäßige Flecke erscheinen (Fig. 71). Dort werden sie aber bald aufgelöst, und es entsteht dasselbe Bild, wie in dem ersten als typisch geschilderten Falle.

Auf jeden Fall bekommen wir einen kernlosen Znstand der Cyste, wo das ganze Chromatin in einem Chromidium verteilt ist. Es fragt sich nun, ob dies ein normaler Zustand ist. Wir haben vor uns einen Organismus, den ich im folgenden „Chromidialcyste“ nennen werde, da er morphologisch den „Chromidialtieren“ (*Actinosphärien*) von R. HERTWIG (1904) vollkommen entspricht, obgleich die Beschaffenheit des Chromidialapparats in beiden Fällen verschieden ist. Wir wissen, daß solche kernlose Actinosphärien schließlich zugrunde gehen. Ferner habe ich selbst im vorigen Kapitel dieser Arbeit gezeigt, daß der kernlose Zustand während der vegetativen Periode bei derselben Art von *Gregarina* häufig vorkommt und die Vorstufe des Todes darstellt. Endlich wurde ein solches Stadium weder bei einer anderen Gregarinenart, trotz zahlreicher zurzeit vorhandener Untersuchungen, noch bei derselben *Gregarina cuneata* von BERNDT als Stufe der normalen Entwicklung beobachtet. Alle diese Erwägungen mahnten zur Vorsicht und erforderten den Nachweis, daß es sich bei den „Chromidialcysten“ nicht um degenerative Veränderungen handeln könne. Eine solche Möglichkeit hat mir mehr als einmal vorgeschwebt, und ich habe mich bemüht, die Sache möglichst genau zu prüfen.

Wiederholt habe ich das folgende Experiment gemacht. Es wurden etwa zwanzig Cysten, die aus demselben Abschnitte eines Mehlwurmdarmes stammten, in einer feuchten Kammer gezüchtet. Wenn alle Cysten sich gleichmäßig entwickelten und das in Frage kommende Stadium beinahe zur selben Zeit erreicht hatten (was sich leicht am lebenden Objekt beurteilen läßt), wurde etwa die Hälfte von den Cysten herausgenommen und nach Konservierung

und Färbung untersucht. Falls die Beobachtung am Lebenden sich dabei als richtig erwies, also ich „Chromidialcysten“ vor mir hatte, wurden die anderen Tiere weiter kultiviert. Von ganz vereinzelt Ausnahmen abgesehen, haben sie sonst immer ganz normale spätere Stadien gegeben, Sporodukten gebildet und scheinbar gesunde Sporen entleert. Deshalb scheint es mir angeschlossen, daß wir in den „Chromidialcysten“ einen pathologischen Zustand haben.

Als erstes Zeichen der weiteren Entwicklung läßt sich ein besonderes Aussehen der Chromidialmasse beobachten. Auf den mit Hämatoxylin nach DELAFIELD behandelten Schnitten erscheint sie nicht mehr wie früher gleichmäßig gefärbt, sondern gewinnt ein fleckiges Aussehen. Bei genauer Untersuchung erweist es sich, daß die Wabenwände den Farbstoff hauptsächlich dicht an den Alveolarflächen speichern. Bald darauf findet man in den dünner gewordenen Wabenwänden Chromatinkörperchen, die meistens wie kleine Bogen aussehen, eine Form, die offenbar durch die Alveolen bedingt ist (Fig. 72). Diese Chromatinbogen scheinen sich in kleinere Körnchen aufzulösen, die dann mehr oder weniger gleichmäßig verbreitet erscheinen (Fig. 73). Die Färbbarkeit des peripheren Wabenwerkes mit Hämatoxylin nach DELAFIELD hat nach dem Ansfallen der Chromatinelemente stark abgenommen, bleibt dabei immer noch etwas größer, als die des Entoplasmas, was auf den Fig. 72 u. 73, die von mit Eisenhämatoxylin gefärbten Präparaten gezeichnet wurden, nicht wiedergegeben ist.

Die beschriebenen Umwandlungen in der Struktur des Chromidialapparates bei *Gregarina cuneata* sind in den Hauptzügen denen analog, die von ZUELZER (1904) für *Diffugia* geschildert sind. Auch hier nimmt die vacuolisierte, keine feinere Struktur aufweisende Chromidialmasse im Laufe des Sommers den Charakter eines blassen Wabenwerkes an, in dessen Wänden Chromatinkörnchen verteilt sind.

Ich habe schon gesagt, daß die Cystenscheidewand meistens schon während der Bildung des peripheren Chromidialsaumes verschwindet. In einigen Fällen bleibt sie längere Zeit erhalten, und bekommt dann auch den Charakter einer Chromidialmasse, die nachher die Chromatinkörperchen ausscheidet. Auf späteren Stadien habe ich die Scheidewand nie mehr gesehen.

Die oben geschilderten Chromidialkörnchen fangen nun an, sich in Gruppen zu vereinigen, die in kleinen Verdichtungen des plasmatischen Wabenwerkes liegen und durch ein farbloses stark lichtbrechendes Gerüst untereinander verbunden sind (Fig. 74). Die

Chromidien haben sich zu Kernen kondensiert. Das dichtere Plasma häuft sich um diese Kerne herum immer mehr und mehr an (Fig. 75). Man sieht dann im Plasmagerüst rundliche Inseln von kompaktem stärker färbbarem Plasma liegen, die mit Kernen versehen sind (Fig. 76). Diese Inseln haben eine ziemlich konstante Größe (gegen 5μ im Durchmesser) und man könnte sie als zellige Einheiten betrachten, wenn sie mit dem Wabenwerk des umgebenden Plasmas nicht in ununterbrochenem Zusammenhange ständen und sich so als Teile einer noch einheitlichen Masse erwiesen. Ich habe sie zuerst für in Bildung begriffene Gameten gehalten. Da aber das Volumen von den letzteren im Moment der Copulation wenigstens viermal kleiner ist, ist man genötigt, entweder eine Kondensierung des Plasmas oder eine Teilung der zuerst gebildeten Elemente anzunehmen. Es scheint mir das letztere wahrscheinlicher, da ich eine Serie von Bildern beobachten konnte, die in diesem Sinne zu deuten sind (Fig. 77–83). So sieht man auf der Fig. 77 in dem betreffenden Element das Chromatin in zwei parallelen Streifen angeordnet, die zwei Tochterplatten einer primitiven Mitose zu sein scheinen. Die Fig. 78 stellt zwei Tochterelemente dar, die ihre Kerne schon im Ruhestadium haben, aber ihrer Lage und Form nach sich als Abkömmlinge von einem Mutterelement dokumentieren. Die Fig. 79–82 veranschaulichen die direkte Teilung eines Tochterelements in zwei Enkelelemente — die Gameten. Die letzteren liegen eine Zeitlang in der peripheren Schicht des Plasmas, mit dessen Wabengerüst sie im Zusammenhange bleiben (Fig. 95). Dann lösen sie sich ab und geraten in den Raum zwischen dem Cystenkörper (der von diesem Stadium ab dem „Restkörper“ der Autoren entspricht) und der Cystenhülle. Jetzt sind es runde, scharf konturierte Körperchen von 3μ im Durchmesser. In deren Mitte liegen die Kerne, die aus nebeneinander angehäuften Chromatinkörnchen bestehen. Diese sind durch farblose Fäden miteinander verbunden (Fig. 83).

Ich glaube also eine zweimalige zur Bildung von Gameten führende Teilung der zuerst gebildeten Elemente annehmen zu dürfen. Ich spreche mich jedoch darüber mit einer gewissen Reserve aus, da der von mir als Teilungsprozeß aufgefaßte Vorgang nur an sehr wenigen Präparaten beobachtet und nie lückenlos auf demselben Präparate verfolgt wurde, was wohl auf den schnellen Ablauf des Prozesses zurückzuführen ist. Ob die chromatischen Körnchen, die dabei zu sehen sind, als Chromosomen aufzufassen sind, lasse ich dahingestellt und kann daher nicht von typischen Reduktionsteilungen sprechen. Sicher scheint nur zu sein, daß die

Zahl dieser Körnchen im Kerne der Gameten geringer als in dem der zuerst gebildeten Elemente ist, wie der Vergleich der Fig. 83 und 76 zeigt.

Jetzt wollen wir den Gang der Entwicklung der Cyste von *Gregarina cuneata*, wie ich ihn geschildert habe, mit den Angaben von BERNDT vergleichen. Es scheint mir, unsere tatsächlichen Beobachtungen stehen in keinem schroffen Gegensatz und lassen sich ziemlich gut in Einklang bringen. Nur scheint BERNDT einige wichtige Stadien übersehen zu haben, die für die allgemeine Auffassung des Prozesses entscheidend sind.

Ich habe bisweilen, ebenso wie BERNDT, den Zerfall der Syzygitenkerne noch im Inneren der Cyste beobachtet. Ich betrachte aber diesen Fall als eine seltene Abänderung des typischen von BERNDT zweifellos übersehenen Vorganges, wo der Kern sich in toto zur Cystenperipherie begibt und am Boden einer Einsenkung des peripheren Plasmas hängen bleibt. Die Auflösung des Kernes in eine periphere Chromidialmasse wurde von BERNDT nicht gesehen, ebenso wie die Entstehung der Kerne aus derselben. Die von ihm gesehenen kleinen Mitosen scheinen mir sich auf einen späteren Vorgang zu beziehen — die Teilung der aus dem Chromidium entstandenen Kerne. Jedenfalls ist ihre frühere Entstehung mit dem ganzen Charakter des von mir beobachteten Prozesses unvereinbar.

Die von mir bei *Gregarina cuneata* geschilderte Art der Gametenkernbildung ist sehr von den Verhältnissen verschieden, die wir bis jetzt bei anderen Gregarinen kennen. Aber bei anderen Protozoengruppen können wir sehr analoge Zustände finden. So bilden sich die Gametenkerne bei vielen Rhizopoden aus einem Chromidium, wie es schon R. HERTWIG (1899 b) für *Arcella* wahrscheinlich gemacht hat, und nachher SCHAUDINN (1903) für *Polystomella*, *Chlamydomyces*, *Centropyxis* und *Entamoeba coli*, GOLDSCHMIDT (1907) für Mastigamöben beobachtet haben. Andererseits erweist sich die Entwicklung bei anderen Rhizopoden als kernkontinuierlich (*Trichosphaerium*, SCHAUDINN, 1898; *Pycnidicola*, DOFLEIN, 1907). Die Coccidien können auch als gutes Beispiel dienen, wie die Gametenkernbildung innerhalb einer Protozoengruppe, die sonst einen ziemlich einförmigen Entwicklungscyclus zu haben scheint, stark variieren kann. Bei *Coccidium schubergi* (SCHAUDINN, 1900) tritt während der Bildung der Microgameten ein deutliches Chromidium auf, das sich später zu Kernen kondensiert (vgl. MESNIL, 1905); es spielt sich also prinzipiell derselbe Vorgang, wie bei *Gregarina cuneata* ab. Bei *Cyclospora caryolytica* (SCHAUDINN, 1902 a) und *Coccidium lacazei* (SCHAUDINN, 1900)

sind die Verhältnisse insofern abweichend, als die Teilungsprodukte des Caryosoms als Sammelcentren für die Partikelchen des Chromidiums dienen. Bei anderen Coccidien vollzieht sich dagegen der Übergang der Microgametoblastenkerne zu Kernen der Gameten durch eine ununterbrochene Reihe von Teilungen (*Adelea ovata*, SIEBLECKI, 1899b; *Adelea mesnili*, PÉREZ, 1903; *Adelea zonula*, MOROFF, 1906; *Coccidium salamandrae*, SIMOND, 1897; *Caryotropha mesnili*, SIEBLECKI, 1902).

Das Stadium mit ausgebildeten Gameten nach dem lebenden Objekt ist auf der Fig. 61 im optischen Querschnitt dargestellt. Der stark lichtbrechende periphere Saum der Fig. 60 ist fast ganz verschwunden. Dabei ist ein Raum zwischen der Oberfläche des Cystenkörpers und der Cystenhülle entstanden, der mit runden Körperchen — den Gameten — ausgefüllt ist. Auffallenderweise konnte ich dabei nie Bewegungen des „Restkörpers“ beobachten, die eine Mischung der Gameten verursachen könnten (BERNDT, 1902). Freilich, bei fortwährender Beobachtung sieht man, daß die Restkörperoberfläche in einem gewissen Moment unregelmäßig wird, als ob stumpfe Ausläufer darauf gebildet würden, die bis zur Cystenhülle reichen. Erstens ist aber der Vorgang so langsam, daß er die ihm von BERNDT zugeschriebene Bedeutung kaum haben könnte, zweitens fängt er erst an, nachdem die Gameten schon copuliert und Zygoten gebildet haben, was an rechtzeitig angefertigten Präparaten zu konstatieren ist. Ich glaube, daß der Prozeß eher mit der Beförderung der Zygoten in die Mitte der Cyste zu tun hat.

Die zwei copulierenden Gameten (Sporoblasten) zeigen keine merkbaren Unterschiede; wir haben also einen Fall von Isogamie vor uns. Die Gameten berühren sich (Fig. 84), verschmelzen mit ihren Plasmakörpern (Fig. 85) und bilden so einen einheitlichen Körper von doppeltem Volumen, der zuerst zwei getrennte Kerne aufweist (Fig. 86). Auch letztere nähern sich, und schließlich kommt es zur Vereinigung. Während ich früher die chromatischen Körnchen nicht als Chromosomen anzusprechen getraute, konnte ich jetzt, nach der Vereinigung der Kerne, deutliche hantelförmige Chromosomen in der konstanten Zahl von acht beobachten (Fig. 87).

Die Zygote verlängert sich, und der Kern stellt wieder einen Haufen von dicht aneinander liegenden Chromatinkörnchen dar (Fig. 88). Die erste Teilung des Syncaryons habe ich nicht beobachtet. Jedenfalls scheint die Angabe von BERNDT, daß sie in der Querrichtung der Zygote stattfindet, wenig wahrscheinlich zu sein, da alle späteren Bilder damit in Widerspruch stehen. Die beiden Tochterkerne finde

ich zuerst als zwei voluminöse chromatische Massen an den Enden der Zygote liegen (Fig. 89). Später werden sie kompakter (Fig. 90) und dann entfernen sie sich etwas von der Peripherie der Zygote, indem sie die Form von eckigen Körpern annehmen, die meistens im optischen Schnitte rhombisch erscheinen (Fig. 91). Durch zweimalige direkte Teilung bekommt man einen achtkernigen Zustand (Fig. 92 und 93). Die Kerne werden sichelförmig und liegen zu vier in zwei der Querachse der Zygote parallelen Ebenen (Fig. 94). Zu dieser Zeit ist die Zygote mit den zwei Hüllen versehen und zu einer fertigen Spore geworden.

Wenn man gefärbte Quetschpräparate von den ersten Stadien nach der Bildung der Gametenkerne untersucht, kann man sich leicht überzeugen, daß ein Teil des aus der einheitlichen Chromidialmasse ansgefallenen Chromatins bei der Entstehung der Kerne unverbraucht geblieben ist und in der Form von unregelmäßigen Körnchen und Schollen an der Peripherie des Cystenkörpers liegt. Sein weiteres Schicksal wollen wir später besprechen.

Die zweikernigen Zygoten liegen meistens der Peripherie des Cystenkörpers an (Fig. 96). In dem vierkernigen Zustande beginnt gewöhnlich die Wanderung der Zygoten in die Mitte des „Restkörpers“. Schnitte durch die auf diesem Stadium sich befindenden Cysten bieten sehr lehrreiche Bilder dar, da dabei das in Form von Körnchen gebliebene Chromatin sich besonders gut beobachten läßt. So sehen wir auf der Fig. 97 die in Wanderung begriffenen, in radiäre Stränge angeordneten, vierkernigen Zygoten. Im Centrum der Cyste liegen die schon von der Peripherie hinübergewanderten, zahlreichen Chromatinkörnchen in einer Ansammlung von dichterem Plasma. Auf Schnitten durch andere Stadien, wo sie von dicht zusammengedrängten Zygoten dem Auge des Beobachters leicht verhüllt werden, sind diese Chromatinkörnchen nur schwer zu erkennen. Auf der Fig. 98 befinden sich die Zygoten dicht aneinander in der Mitte des „Restkörpers“. Manchmal sind sie dabei so zusammengedrückt, daß die Konturen der Zygoten gar nicht zu unterscheiden und nur die Vierkerngruppen zu sehen sind. Bei oberflächlicher Beobachtung ist man geneigt, solche Bilder als eine centrale Ansammlung von Chromidialkörnchen aufzufassen und lernt nur durch Vergleich mit günstigeren Fällen die richtige Bedeutung des betreffenden Stadiums kennen.

Die centrale Masse der anfangs, wie gesagt, dicht zusammengedrängten Zygoten fängt allmählich an, sich zu lockern. Dabei nimmt ihre vorher unregelmäßige Kontur eine bestimmte Konfiguration

an. Es werden von der Peripherie der Zygotenmasse Ausläufer gebildet, die in Form von abgestutzten Kegeln oder Schornsteinen zur Oberfläche des „Restkörpers“ reichen. Zu gleicher Zeit wird die innere Plasmaschicht des „Restkörpers“ engmaschig und bildet eine feste Abgrenzung für den Raum, wo die Zygoten liegen, und den ich im weiteren „Brutraum“ nennen werde. Die Zygoten haben meistens schon das Achtkernstadium erreicht und die zwei Hüllen (Epi- und Endospore) gebildet (Fig. 99). Auffallenderweise sind im Brutraume selbst keine Spuren von Chromatinkörnchen mehr zu konstatieren. Dagegen kann man sich an mit Borax-Karmin gefärbten und stark ausgezogenen Totalpräparaten leicht überzeugen, daß die Brutraumwand stellenweise stark chromatisch ist. Es ist wohl anzunehmen, daß das Chromatin, welches in Form von Körnchen sich im Brutraume befand, in feinverteiltem oder gelöstem Zustande in die Brutraumwand gelangt und hier als Chromidialmasse erscheint. Anfangs sind die chromatischen Flecken regellos in der Brutraumwand verteilt. Später scheint sich das Chromatin immer näher und näher der Restkörperperipherie in den Wänden der schornsteinförmigen Brutraumausläufer zu konzentrieren, was eine Vorbereitung zur Sporoductenbildung darstellt. Die Fig. 100 veranschaulicht den Endabschnitt eines solchen Ausläufers im optischen Längsschnitte. Auf der Cystenoberfläche erscheinen dabei breite chromatische Ringe, die in Wirklichkeit optische Querschnitte durch die Wände der peripheren Enden derselben Ausläufer darstellen (Fig. 101). Auf dem nächsten Stadium sehen wir die etwas verengten Brutraumausläufer von der Peripherie mit einer schüsselförmigen Chromidialmasse gedeckt (Fig. 102 in opt. Längsschnitte; Fig. 103 — Oberflächenbild). Von dem Boden derselben fängt der Sporoduct an, in Form eines doppelwandigen, stark färbbaren Cylinders in das Innere des „Restkörpers“ hineinzuwachsen. Dabei schiebt er die ihm auf dem Weg liegenden Sporen auseinander, indem er selbst eine unregelmäßig geschlängelte Gestalt annimmt (Fig. 104). Die Fig. 105 zeigt einen Sporoduct, der seine definitive Größe erreicht hat und vor der Ausstülpung steht. Er hat die Form eines etwas gebogenen doppelwandigen Trichters, dessen unteres Ende leicht angeschwollen ist. Die innere und äußere Wand sind stark chromatisch und mit zahlreichen Querbalkchen miteinander verbunden. An der Cystenperipherie sind sie in ein einheitliches Gebilde verschmolzen. Das innere Lumen des Sporoductes ist häufig durch eine oder mehrere Scheidewände geteilt. An dem Ansatzrande des Sporoductes ist ein stark färbbares weitmaschiges Gerüst entwickelt. Auf diesem

Stadium ist das Chromatin wieder in Form von Körnchen zu sehen, die in charakteristischer Weise in der Umgebung der Ansatzstelle des Sporoductes angeordnet sind (Flächenbild Fig. 106) und von da aus längs der Brntraumwand eine Strecke weit zu verfolgen sind. Auf der Fig. 107 ist ein gerade in Umstülpung begriffener Sporoduct dargestellt, wo die oben erwähnten Scheidewände nicht mehr zu sehen sind. Einen ausgestülpten Sporoduct veranschaulicht die Fig. 108. Derselbe läßt die zwei Wände der Fig. 105 unterscheiden, deren gegenseitige Lage selbstverständlich umgekehrt ist. Die jetzige innere Wand ist stark chromatisch geblieben, die äußere hat ihre Färbbarkeit beinahe eingebüßt und scheint eine pellicula-artige Konsistenz angenommen zu haben. Die beiden Wände sind durch die austretenden Sporen dicht aneinander gepreßt, und das ganze Rohr beträchtlich erweitert. An seiner Basis ist der Sporoduct angeschwollen und wird nochmals ein wenig breiter an seinem distalen Ende.

Auf allen Stadien der Sporoductenbildung ist eine nicht geringe Menge von Paraglykogenkörnern im Plasma des „Restkörpers“ zu konstatieren.

Wir wollen jetzt etwas zurückkehren und die Erscheinungen schildern, die sich nach der Copulation der Gameten an lebenden Cysten beobachten lassen. Wie schon oben erwähnt wurde, wird die Oberfläche des „Restkörpers“ unregelmäßig, und der Raum zwischen derselben und der Cystenhülle verschwindet allmählich, was auf die Wanderung der Zygote in das Innere des „Restkörpers“ zurückzuführen ist. Dann wird die Oberfläche des „Restkörpers“ wieder glatt, und die Cyste sieht so aus, wie vor der Bildung des hellen peripheren Saums (Fig. 59), nur ohne den der Scheidewand entsprechenden Streifen. Bald kann man schon die ersten Zeichen der Sporoductenbildung sehen. Auf der Oberfläche des „Restkörpers“ erscheinen sternförmige Flecke, die durch Ansammlungen von kleinen Paraglykogenkörnern bedingt sind und durch ein Netz von größeren Paraglykogenkörnern miteinander in Verbindung stehen. In der Mitte von jedem „Sterne“ ist eine Öffnung und in der letzteren, bei tieferer Einstellung, eine Gruppe von Sporen zu sehen (Fig. 62). Das Bild kann schon am Ende des fünften Tages auftreten, und ist während des sechsten noch zu beobachten; nur sind die Sporen meistens nicht mehr zu sehen, weil sie durch den hineinwachsenden Sporoduct verdrängt worden sind. Am siebenten Tag zieht sich der „Restkörper“ von der Cystenhülle teilweise zurück, wobei er an den durch die sternförmigen Flecken bezeichneten Stellen mit ihr in

Verbindung bleibt. Infolgedessen bekommt er eine ziemlich komplizierte Gestalt, wie auf der Fig. 63 dargestellt ist. Meistens während des achten Tages schrumpft die Cystenhülle und verschwindet langsam, indem sie gelöst wird. Der „Restkörper“ zieht sich dabei zusammen und rundet sich ab. Bald nachher werden die Sporoducten durch die oben erwähnten Öffnungen in der Mitte der sternförmigen Figuren langsam herangestülpt und das Ausstreuen der Sporen fängt an (Fig. 64). Bei dem Übergang von dem Stadium der Fig. 62 zu dem der Fig. 64 ist eine beträchtliche Volumenabnahme des „Restkörpers“ zu beobachten, wie es die den natürlichen Verhältnissen genau entsprechenden Abbildungen dokumentieren.

Es fragt sich nun, was die Umstülpung des Sporoducten und nachher das Austreten der Sporen durch diese verursacht. Die von BÜTSCHLI (1880—89) für *Clepsidrina blattarum* gemachte Vermutung, daß es sich um elastische Kräfte der gespannten Cystenhülle handelt, kann in unserem Falle nicht gelten, da diese kurz vor der Umstülpung verschwindet. Von einem durch die Quellung irgendwelcher sich im Innern des „Restkörpers“ befindenden Substanz hervorgerufenen Überdruck kann kaum die Rede sein, da das Volumen des „Restkörpers“ sich immer mehr und mehr verkleinert, bis er als ein winziges Klümpchen mit runzeliger Oberfläche erscheint. Vielmehr macht der ganze Prozeß den Eindruck, als ob es sich um eine Kontraktion des „Restkörpers“ handelte.

Wir wollen jetzt das Schicksal des Chromatins von dem Beginn der Entwicklung der Cyste bis zum Stadium mit fertigen Sporoducten in aller Kürze rekapitulieren. Der ganze Kern (da der Nucleus im Inneren des Kernes vorher verschwindet) geht in die periphere Chromidialmasse auf. Diese gibt Ursprung sowohl den Kernen der Gameten als auch dem Chromatin, das später eine große Rolle bei der Ausbildung der Sporoducten zu spielen scheint, nachher teilweise im „Restkörper“ in Form von Chromidien bleibt und mit diesem zusammen zugrunde geht. Wenn wir die seit der Arbeiten von GOLDSCHMIDT (1905a und 1905b) in der Literatur eingebürgerte Nomenklatur — *mutatis mutandis* — anwenden wollen, ist die einheitliche Chromidialmasse ein *Amphichromidium* zu nennen, das Chromatin der Gametenkerne — *Idiochromatin* (*Sporotium*) und das Chromatin des „Restkörpers“ — *Trophochromatin* (*Chromidium* s. str.). Ich will doch hier betonen, daß ich diese Benennungen benutze, nur um das verschiedene Schicksal der beiden Chromatinportionen kurz auszudrücken, ohne dabei einen prinzipiellen Unterschied derselben beimessen zu wollen, wie es sonst die

SCHAUDINN-GOLDSCHMIDT'sche Lehre von der Doppelkernigkeit der Zelle tut.

Die Trennung der Kernsubstanz in zwei Portionen scheint eine bei den Protozoen wie bei den Metazoen weit verbreitete Erscheinung zu sein, wie die zitierten Zusammenstellungen von GOLDSCHMIDT in klarer Weise veranschaulichen. Speziell bei den Gregarinen ist sie in allen näher untersuchten Fällen in einer oder anderer Form bekannt. Der entsprechende Vorgang bei *Gregarina cuneata* stellt also nichts Neues dar. Während aber sonst das somatische Chromatin keine weitere funktionelle Bedeutung zu haben und bald zugrunde zu gehen scheint, spielt es in unserem Falle eine wichtige Rolle als chromatische Substanz des „Restkörpers“, der die wichtige und komplizierte Aufgabe hat, für die Sporen zu sorgen und, in erster Linie, die Sporoducten auszubilden. Ich habe gezeigt, daß gerade bei diesem Vorgange das Chromatin in Tätigkeit zu treten scheint, indem es in Form von Chromidialmasse sich an den Stellen ansammelt, wo die Sporoducten wachsen. Ein Teil des Chromatins scheint dabei als Baumaterial für die Sporoducten zu dienen, da, wie gesagt, diese stark chromatisch erscheinen. Diese Tatsache bleibt nicht ohne Analogie bei anderen Organismen. Es sei hier die Umwandlung der Mitochondrien in die Spiralfäden (BENDA 1897) oder in die formbestimmenden Elemente (KOLTZOFF 1905) bei der Spermienentwicklung erwähnt.

Bis jetzt habe ich immer, der Tradition folgend, von einem „Restkörper“ gesprochen. Dieser Name scheint mir jedoch in einigen Fällen ungerechtfertigt zu sein, da das entsprechende Gebilde nicht funktionslos zugrunde geht. Schon LÉGER (1904) und GOLDSCHMIDT (1905 b) haben mit Recht dasselbe mit dem Metazoensoma verglichen. Ich möchte es noch weiter ausführen und den „Restkörper“ von *Gregarina cuneata* (und von den anderen sporoductenbildenden Gregarinen) mit einem Mutterorganismus vergleichen, der eine auffallende Sorge für seine Nachkommen aufweist. Er befördert die Zygoten von der Peripherie in sein Inneres, wo sie die Möglichkeit haben, geschützt sich weiter zu entwickeln. Er bildet eine Bruthöhle mit einer differenzierten Wand und Ausführungsgänge — die Sporoducten. Durch diese entleert er die fertigen Sporen. Die Möglichkeit von einer so andauernden und komplizierten Tätigkeit können wir uns nur so vorstellen, daß wir eine komplette Zelle vor uns haben, deren Chromatin in Form von einem Chromidium erscheint. Um diese zahlreichen Funktionen vollführen zu können, besitzt sie eine ansiehbare Menge von Reservestoffen (Paraglykogen-

körner) als Energiequelle. Diese Zelle ist aber doppelter Herkunft, da sie immer durch Verschmelzung von zwei Organismen zustande kommt. Diese Verschmelzung kann vor der Gametenbildung stattfinden, wie es bei *Gregarina cuneata* der Fall ist, oder nachher, wie bei vielen anderen sporoductenbildenden Gregarinen (z. B. *Clepsidrina blattarum*, BÜTSCHLI 1880—89; *Clepsidrina ovata*, SCHNITZLER 1905), scheint aber jedenfalls eine Vorbedingung für die weitere Entwicklung des „Restkörpers“ zu sein.

Am Schlusse dieser Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Geheimrat Prof. R. HERTWIG, in dessen Institut diese Arbeit anzufertigen mir vergönnt war, für seine mir stets erwiesene höchst liebenswürdige Unterstützung meinen herzlichsten Dank auszusprechen. Auch möchte ich diese Gelegenheit wahrnehmen, Herrn Privatdozent Dr. R. GOLDSCHMIDT für das rege Interesse an meiner Arbeit und für seine guten Ratschläge verbindlichst zu danken.

Literaturverzeichnis.

- 1907 AWERINZEW, S.: Beiträge zur Kenntnis der Süßwasserrhizopoden. Arch. f. Protistenk. Bd. 8.
- 1898 BAMBÉKE, VAN: Contributions à l'histoire de la constitution de l'œuf. Arch. de Biol. T. 15.
- 1885 BARFURTH, D.: Vergleichend-histochemische Untersuchungen über das Glycogen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 25.
- 1897 BENDA, C.: Neuere Mitteilungen über die Histogenese des Säugetierspermatozoen. Verh. physiol. Ges. Berlin.
- 1902 BERNDT, ARTH.: Beitrag zur Kenntnis der im Darne der Larve von *Tenebrio molitor* lebenden Gregarinen. Arch. f. Protistenk. Bd. 1.
- 1905 BRASIL, L.: Recherches sur la reproduction des Grégarines monocystidées. Arch. de Zool. expér. Ser. 4 Vol. 3.
- 1883—84 BRASS, A.: Biologische Studien. II. Die Organisation der tierischen Zelle. Halle.
- 1893 BRAUER, AUG.: Zur Kenntnis der Spermatogenese von *Ascaris meg.* Arch. f. mikr. Anat. Bd. 42.
- 1876 BÜTSCHLI, O.: Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge der Eizelle, die Zellteilung und die Conjugation der Infusorien. Abh. Senckenb. naturf. Ges. Frankfurt a. M. Vol. 10.
- 1880—89 —: Protozoa. BRONN's Klassen und Ordnungen des Tierreichs Bd. 1.
- 1900 CRÉNOT, L.: Recherches sur l'évolution et la conjugaison des Grégarines. Arch. de Biol. T. 17.
- 1900 DOFLEIN, F.: Zell- und Protoplasma Studien. I. Heft: Zur Morphologie und Physiologie der Kern- und Zellteilung. Nach Untersuchungen an *Noctiluca* und anderen Organismen. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ont. Bd. 14.

- 1907 DOVLEIN, F.: Fortpflanzungserscheinungen bei Amöben und verwandten Organismen. Separatabdr. a. d. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München.
- 1906 DOGIÉL, V.: Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. I. *Cystobia chirodotae* nov. sp. Arch. f. Protistenk. Bd. 7.
- 1903 DRAEWECKI, W.: Über vegetative Vorgänge im Kern und Plasma der Gregarinen des Regenwurmhemden. Arch. f. Protistenk. Bd. 3.
- 1885 FLEMMING, W.: Über die Bildung von Richtungsfiguren in Säugetiereiern beim Untergang GRAAF'scher Follikel. Arch. f. Anat. u. Phys., Anat. Aht., Jahrg. 1885.
- 1887 —: Neue Beiträge zur Kenntnis der Zelle. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 29.
- 1905a GOLDSCHMIDT, R.: Die Chromidien der Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. 5.
- 1905b —: Der Chromidialapparat lebhafte funktionierender Gewebszellen. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ont., Bd. 21.
- 1907 —: Über die Lebensgeschichte der Mastigamöben. Separatabdr. a. d. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München.
- 1890 HERTWIG, O.: Vergleich der Ei- und Samenbildung bei Nematoden. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 36.
- 1896 HERTWIG, R.: Über die Entwicklung des unbefruchteten Seeigeleies. Ein Beitrag zur Lehre von der Kernteilung und der geschlechtlichen Differenzierung. Festschr. C. GREGENBAUR Bd. 3.
- 1898 —: Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von Actinosphaerium eichhorni. Abh. d. k. bayr. Akad. d. Wiss. II. Kl. Bd. 9 Aht. 3.
- 1899a —: Was veranlaßt die Befruchtung bei Protozoen? Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München Bd. 15.
- 1899b —: Über die Encystierung und Kernvermehrung bei *Arcella vulgaris*. Festschr. f. C. v. KUPFFER. Jena.
- 1900 —: Über physiologische Degeneration bei Protozoen. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. München Bd. 16.
- 1903 —: Über das Wechselverhältnis von Kern und Protoplasma. Ibid. Bd. 18.
- 1904 —: Über physiologische Degeneration bei *Actinosphaerium eichhorni*. Festschrift f. ERNST HAECKEL. Jena.
- 1907 —: Über die Ursache des Todes. Vortrag. Allg. Zeitung Nr. 288 u. 289, Beilage.
- 1901 KASANZEFF, W.: Experimentelle Untersuchungen über *Paramaecium caudatum*. Inang.-Diss. Zürich.
- 1906 KYSSELITZ, G.: Generations- und Wirtswechsel von *Trypanosoma borelli* LAVERAN et MESNIL. Arch. f. Protistenk. Bd. 7.
- 1901 KING, H.: The Maturation and fertilisation of the egg of *Bafo lentiginosus*. Journ. Morph. V. 17.
- 1905 KOLTZOFF, N.: Studien über die Gestalt der Zelle. I. Untersuchungen über die Spermien der Decapoden usw. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 67.
- 1889 KORSCHULT, E.: Beiträge zur Morphologie und Physiologie des Zellkerns. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ont., Bd. 4.
- 1902 LANGE, ARTH.: Über den Bau und die Funktion der Speicheldrüsen bei den Gasteropoden. Anat. Hefte Aht. 1 Heft 61 (Bd. 19 Heft 2).
- 1901 LEBRUN, H.: La vésicule germinative et les globules polaires chez les Batraciens. Cinquième mémoire. Les cinèses sexuelles des Anoures. La cellule T. 19.
- 1904a LÉGER, L.: La reproduction sexuée chez les Stylorhynchus. Arch. f. Protistenk. Bd. 3.

- 1904b LÉGER, L.: Sporozoaires parasites de l'Embria solieri RAMBUR. Arch. f. Protistenk. Bd. 3.
- 1906 —: Etudes sur Taeniocystis mira LÉGER, Grégarine métamérique. Arch. f. Protistenk. Bd. 7.
- 1907 —: Les Schizogregarines des Trachéates. I. Le genre Ophryocystis. Arch. f. Protistenk. Bd. 8.
- 1902 LÉGER et DUBOSCQ: Les Grégarines et l'épithélium intestinal chez les Trachéates. Arch. de Parasit. T. 6.
- 1903 —: La reproduction sexuée chez les Pterocephalus. Arch. d. Zool. expér. Ser. 4 T. 1 N. et R.
- 1904 —: Nouvelles recherches sur les Grégarines et l'épithélium intestinal des Trachéates. Arch. f. Protistenk. Bd. 4.
- 1876 LEYDIG, F.: Hautdecke und Schale der Gastropoden. Arch. f. Naturgesch. Jahrg. 1876.
- 1888 —: Beiträge zur Kenntnis des tierischen Eies im unbefruchteten Zustande. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ont., Bd. 3.
- 1904 LÜHE, M.: Bau und Entwicklung der Gregarinen. I. Teil. (Zusammenfassende Übersicht.) Arch. f. Protistenk. Bd. 4.
- 1906 MARCUS, H.: Ei- und Samenreife bei Ascaris canis (WERNER). (Ascaris mystax.) Arch. f. mikr. Anat. Bd. 68.
- 1905 MESNIL, F.: Chromidies et Questions connexes. Bull. de l'Inst. Pasteur T. 3.
- 1888 MEUNIER, ALPH.: Le Nudéole des Spirogyra. La Cellule T. 3.
- 1900 MORGAN, TH.: Further Studies on the Action of Salt-Solutions and of other Agents on the Eggs of Arbacia. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. 10.
- 1906 MOROFF, TH.: Untersuchungen über Coccidien. I. Adelea zonula nov. sp. Arch. f. Protistenk. Bd. 8.
- 1899 MRÁZEK: Studia o sporozoich. Dělení jaderné a sporulace u Gregarini. Sitz.-Ber. d. k. böhm. Ges.
- 1904 PAHLER, F.: Über die Morphologie, Fortpflanzung und Entwicklung von Gregarina ovata. Arch. f. Protistenk. Bd. 4.
- 1902 PÉNAUD, E.: Faune Rhizopodique du Bassin du Léman. Genève.
- 1903 PÉREZ, CH.: Le Cycle évolutif de l'Adelca mesnili. Arch. f. Protistenk. Bd. 2.
- 1883 PYTZNER: Beiträge zur Lehre vom Bau des Zellkerns und seinen Teilungserscheinungen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 22.
- 1886 —: Zur pathologischen Anatomie des Zellkerns. Virchow's Arch. Bd. 103.
- 1906 PRANDTL, H.: Die Conjugation von Didinium nasutum O. F. M. Arch. f. Protistenk. Bd. 7.
- 1907 —: Die physiologische Degeneration der Amoeba proteus. Arch. f. Protistenk. Bd. 8.
- 1902 PROWAZEK, S.: Zur Entwicklung der Gregarinen. Arch. f. Protistenk. Bd. 1.
- 1899 SCHAUDINN, F.: Untersuchungen über den Generationswechsel von Trichosphaerium sieboldi. Abh. d. k. Akad. d. Wiss. Berlin.
- 1900 —: Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ont., Bd. 13.
- 1902a —: Studien über krankheitserregende Protozoen. I. Cyclospora caryolytica SCHAUD. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Bd. 18.
- 1902b —: Studien über krankheitserregende Protozoen. II. Plasmodium vivax usw. Ibid. Bd. 19.
- 1903 —: Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Ibid. Bd. 19.

- 1888 SCHREWIAKOFF, W.: Über die karyokinetische Kernteilung der Euglypha alveolata. Morph. Jahrb. Bd. 13.
- 1875 SCHNEIDER, AIME: Contributions à l'histoire des Grégarines des Invertébrés de Paris et de Roscoff. Arch. Zool. expér. Ser. 1 T. 4.
- 1904 SCHNITZLER, H.: Über die Fortpflanzung von Clepsidrina ovata. Arch. f. Protistenk. Bd. 6.
- 1899a SIEDLECKI, M.: Über die geschlechtliche Vermehrung der Monocystis acidiae R. LANK. Bull. intern. Acad. Sc. Cracovie.
- 1899b —: Etude cytologique et cycle évolutif de l'Adelea ovata SCHN. Ann. Inst. Past. T. 13.
- 1902 —: Cycle évolutif de la Caryotropha menillii etc. Bull. intern. Acad. Sc. Cracovie, Cl. Sc. Math.-Nat.
- 1905 —: Über die Bedeutung des Caryosoms. Ibid.
- 1897 SIMOND, P. L.: L'évolution des Sporozoaires du genre Coccidium. Ann. Inst. Pasteur T. 11.
- 1884 STRASSBURGER, ED.: Die Kontroversen der indirekten Kernteilung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 23.
- 1904 VAHLKAMPF, E.: Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von Amoeba limax, einschließlich der Züchtung auf künstlichem Nährboden. Inaug.-Diss. Marburg.
- 1902 WASSILINFF, A.: Über künstliche Parthenogenese des Seeigeleies. Biol. Centralbl. Bd. 22.
- 1895 WILSON, E. B.: Archoplasma, Centrosoma and Chromatin in the Sea-Urchin Egg. Journ. Morph. Vol. 11.
- 1891 WOLTERS, M.: Die Conjugation und Sporenbildung bei Gregariinen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 37.
- 1906 WOODRUFF, L. L.: An experimental Study on the Life-history of hypotrichous Infusoria. Journ. exper. Zool. V. 2.
- 1904 ZIEGLER, M.: Beiträge zur Kenntnis von Diffingia urceolata CARTER. Arch. f. Protistenk. Bd. 4.

Tafelerklärung.

Alle Figuren sind mit Hilfe des Abnë'schen Zeichenapparates auf die Tischfläche entworfen. Mikroskop von ZEISS mit Kompensationsocularen 2, 4, 8, 12. u. 18. Homog. Immers. 2 u. 1,5 mm. Tubuslänge 160 mm.

Tafel XIII.

Fig. 1—9. *Gregarina cuneata*. Fig. 1—2; 6—9 Oc. 12, Obj. 2. Fig. 3—5 Oc. 8, Obj. 2.

Fig. 1. Teil eines Querschnittes E.-H.

Fig. 2. Teil eines Längsschnittes. Verschiedene Arten von Entoplasma. E.-H.

Fig. 3. Kern mit chromatinfreiem Liningerüst. Schn.-Pr. E.-H.

Fig. 4 (Bor.-K.) u. 5 (E.-H.). Austreten der chromatischen Körperchen aus dem Nucleolus. Schn.-Pr.

Fig. 6—9. Chromatinarne Nucleoli (Safr. Lichtgr.).

Fig. 10—11. *Gr. polymorpha*. Oc. 8, Obj. 2.

Fig. 10. Kern in ruhendem Zustande mit der achromatischen Kappe. Tot.-Pr., Bor.-K.

Fig. 11. Verschiedene Formen von chromatischen Gehilden im Protomerit. Tot.-Pr., Bor.-K.

Fig. 12—14. *G. steini*. Oc. 8, Obj. 2. Tot.-Pr., Bor.-K.

Fig. 12. Kern in ruhendem Zustande.

Fig. 13—14. Kerne mit dem Nucleolus an der Peripherie.

Fig. 15—17. *Gr. cuneata*. Oc. 8, Obj. 2, Tot.-Pr., Bor.-K.

Fig. 15. Amöboider Kern.

Fig. 16. Abtrennung von chromatischen Körperchen von der Kernperipherie.

Fig. 17. Das Kerngerüst geht in das Plasmagerüst über.

Fig. 18. Dasselbe bei *Gr. polymorpha*. Links ist ein Teil der Kernmembran erhalten. Oc. 8, Obj. 2. Schn.-Pr., E.-H.

Fig. 19—45. Oc. 8, Obj. 2. Tot.-Pr., Bor.-K.

Fig. 19—20. *Gr. steini*. I. Reihe degenerativer Kernveränderungen. Zwei Stadien des Kernverschwindens.

Fig. 21—24. *Gr. cuneata*. II. Reihe von degenerativen Kernveränderungen. Homogenisation des Kerninhaltes und dessen nachherige Umwandlung in Plasmagerüst.

Fig. 25. *Gr. cuneata*. Umwandlung eines Teiles des Kerninhaltes in Plasmagerüst bei erhaltenem Nucleolus.

Fig. 26—28. *Gr. steini*. Zerfall des Nucleolus.

Fig. 29. Dasselbe bei *Gr. cuneata*.

Fig. 30—31. Dasselbe bei *Gr. polymorpha*.

Fig. 32—45. *Gr. cuneata*.

Fig. 32—35. III. Reihe von degenerativen Kernveränderungen. Allmähliche Umwandlung des Kerninhaltes in Plasmagerüst.

Fig. 36—37. Eigentümliche Formen des Nucleolus am Anfange desselben Prozesses.

Fig. 38. Degenerierender Kern mit grober Schwammstruktur.

Fig. 39—42. IV. Reihe von degenerativen Kernveränderungen. Strahlender, flammender, stechapfelförmiger und verklumpter Kern.

Fig. 43. Degenerierender Kern mit erhaltener Strahlung.

Fig. 44. Hyperchromatischer amöboider Kern in Verbindung mit dem Ectoplasma.

Fig. 45. Hyperchromatischer strahlender Kern, an dem Septum hängend.

Tafel XIV.

Fig. 46—50. *Gr. steini*. Oh. 8, Obj. 2, Tot.-Pr., Bor.-K.

Fig. 46. Strahlender Kern.

Fig. 47. Abtrennung der strahlenden chromatischen Körperchen von einem strahlenden Kerne.

Fig. 48. Zerschnürung eines strahlenden Kernes in zwei gleich große Hälften.

Fig. 49. Stechapfelförmiger Kern.

Fig. 50. Verklumpter Kern.

Fig. 51—52. *Gr. polymorpha*. Abtrennung kleinerer und größerer Teile von dem strahlenden Kerne. Oc. 8, Obj. 2, Tot.-Pr., Bor.-K.

Fig. 53. *Gr. polymorpha*. Migration der strahlenden chromatischen Körperchen in den Protomerit. Oc. 4, Obj. 2, Tot.-Pr., Bor.-K.

Fig. 54. *Gr. cuneata*. Kernloses Individuum. Oc. 2, Obj. 2, Tot.-Pr., Bor.-K.

Fig. 55. *Gr. steini*. Dasselbe. Oc. 4, Obj. 2, Tot.-Pr., Bor.-K.

Fig. 56. *Gr. steini*. Kernloses Individuum im Absterben, mit aufgeblasenem Körper und geschrumpfter Pellicula. Oc. 4, Obj. 2, Tot.-Pr., Bor.-K.

Fig. 57. *Gr. polymorpha*. Kernloses Individuum. Oc. 2, Obj. 2, Tot.-Pr., Bor.-K.

Fig. 58. *Gr. cuneata*. Größere Chromidialbrocken im Plasma. Oc. 4, Obj. 2, Tot.-Pr., Bor.-K.

Tafel XV.

Germinative Vorgänge bei *Gr. cuneata*.

Fig. 59—64. Cysten in lebendigem Zustande. Oc. 8, Obj. 8, bis auf $\frac{1}{2}$ des Durchmessers bei Reproduktion der Tafel verkleinert.

Fig. 59. Cyste soeben aus dem Mehlwurmdarme herausgenommen. Oberflächenansicht.

Fig. 60. Cyste mit einem hellen, stark lichtbrechenden Saume („Chromidialcyste“). Optischer Querschnitt.

Fig. 61. Cyste mit gebildeten Sporoblasten. Optischer Querschnitt.

Fig. 62—64. Verschiedene Stadien der Sporoductenbildung. Oberflächenbilder.

Fig. 65—68. Oc. 8, Obj. 2, Schn.-Pr., Bor.-K.

Fig. 65. Kern einer soeben gebildeten Cyste.

Fig. 66. Kern an der Cystenperipherie.

Fig. 67—68. Kern am Boden einer tieferen oder flacheren peripheren Einsenkung.

Fig. 69. „Chromidialcyste“. Oc. 4, Obj. 2, Schn.-Pr., Hämat. u. DELAF.

Fig. 70. Parzellierung eines Kernteiles. Oc. 8, Obj. 2, Schn.-Pr., Bor.-K.

Fig. 71. Peripherer Schnitt durch eine Cyste. Flammende Kernstücke an der Peripherie. Oc. 4, Obj. 2, Bor.-K.

Fig. 72—73. Chromidialsaum einer Cyste mit ausgefallenen Chromatinkörnchen. Schn.-Pr., Oc. 12, Obj. 2, E.-H.

Fig. 74. Gruppierung von Chromidialkörnchen in Kerne. Quetschpr., Oc. 12, Obj. 2.

Fig. 75. Ansammlungen von Plasma um die gebildeten Kerne. Quetschpr., Oc. 18, Obj. 1,5.

Tafel XVI.

Germinative Vorgänge bei *Gr. cuneata*.

Fig. 76—94. Oc. 18, Obj. 1,5. Quetschpr., E.-H.

Fig. 76—82. Bildung der Gameten aus den zuerst entstandenen Elementen durch zweifache Teilung.

Fig. 83—87. Fertige Gameten und deren Copulation.

Fig. 88—94. Umbildung der Zygote zu einer fertigen Spore.

Fig. 95. Sporoblasten vor der Abtrennung von dem „Restkörper“. Oc. 12, Obj. 2, Schn.-Pr., E.-H.

Fig. 96—99. Oc. 4, Obj. 2, Schn.-Pr., Hämat. u. DELAF.

Fig. 96. Zweikernige Zygoten an der Peripherie des „Restkörpers“.

Fig. 97. Migration der Zygoten in das Centrum des „Restkörpers“. In seiner Mitte dichteres Plasma mit Chromatinkörnchen.

Fig. 98. Vierkernige Zygoten im Centrum des „Restkörpers“.

Fig. 99. Achtkernige Zygoten in einer „Bruthöhle“ liegend. Anfang der Sporoductenbildung.

Fig. 100—108. Sporoductenbildung. Oc. 8, Obj. 2, Bor.-K., Tot.-Pr. (Fig. 104 Schn.-Pr.).

Fig. 100, 102, 104. Optische Längsschnitte der in Bildung begriffenen Sporoducten.

Fig. 101 u. 103. Oberflächenbilder, den Längsschnittbildern Fig. 100 u. 102 entsprechend.

Fig. 105. Fertiger Sporoduct vor der Umstülpung. Optischer Längsschnitt.

Fig. 106. Entsprechendes Oberflächenbild.

Fig. 107. Sporoduct in Umstülpung begriffen.

Fig. 108. Umgestülpter Sporoduct im Beginn der Sporenentleerung.

*Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.*

Studien zur Naturgeschichte der Protozoen.

Von
F. Doflein.

V. Amöbenstudien. Erster Teil.

(Hierzu Tafel XVII—XIX und 17 Textfiguren.)

In der nächsten Zeit beabsichtige ich einige Fortsetzungen meiner vor Jahren begonnenen Studien zur Naturgeschichte der Protozoen zu veröffentlichen; diese neuen Untersuchungen sind bei den Vorbereitungen zur II. Auflage meines Buches über die parasitischen und pathogenen Protozoen entstanden. Ich hatte das Bedürfnis, mir über manche Probleme der neueren Protozoenforschung durch eigene Untersuchung ein selbständiges Urteil zu verschaffen. Dabei ergab es sich, daß mir auf manchen Gebieten neue Tatsachen entgegentraten, und daß manche meiner Beobachtungen mir eine von derjenigen anderer Forscher abweichende Beurteilung der Befunde aufdrängten. Da alle diese verschiedenartigen Dinge in einem Lehrbuch nur einen geringen Raum einnehmen dürfen, sollen sie hier ausführlichere Darstellung finden. Entsprechend ihrer Entstehungsweise werden diese Studien einen verschiedenartigen Charakter tragen; einige werden ausführlicher sein und hauptsächlich auf eigenen neuen Beobachtungen basieren, andere werden kürzer, aphoristischer sein, und an der Hand einzelner Beobachtungen meine in dem Lehrbuch vertretenen Anschauungen des näheren darlegen und verteidigen.

Diese erste Studie ist wesentlich auf Beobachtungen begründet, welche ich an einer mittelgroßen freilebenden Amöbe des Süßwassers gemacht habe.

A. Beschreibung der *Amoeba vespertilio* PEN.

Im Herbst 1906 trat in meinen Kulturgefäßen eine schöne Amöbe in großen Mengen auf; dieselbe Art fand sich zur gleichen Zeit in einem Aquarium des zoologischen Instituts, dessen Wasser aus einem Moorgraben bei Murnau stammte, während das Wasser meiner Kulturen aus einem Sumpf im oberen Isartal entnommen war. Im Anfang schien mir das Tier zu den wenigen leicht charakterisierbaren Amöbenarten zu gehören, denn die herrschende Pseudopodienform war sehr auffallend und immer wiederkehrend. Nachdem ich aber die Amöbe längere Zeit in Kultur gehalten hatte, erkannte ich, daß sie ebenso variabel in der Form ist, wie irgend eine andere Amöbenart; einige der Bedingungen, welche bestimmte Gestaltänderungen herbeiführen, werden wir unten näher kennen lernen.

Die Amöbe zeigt ihre typische Form dann, wenn sie bei der Bewegung sich einer Unterlage anschmiegt, dann erkennt man deutlich den Gegensatz zwischen einem glashellen wenig gekörneltten Ectoplasma und einem an Inhaltsgebilden sehr reichen granulierten Entoplasma. Das Ectoplasma ragt in Form von vielfach verzweigten Pseudopodien von sehr eigenartigen Umrissen hervor. Die Pseudopodien sind nämlich meist von schlanken Knrven abgegrenzt und enden mit zipfelförmigen Spitzen, so daß der Umriss des ganzen Tieres oft an denjenigen eines Fledermausflügels erinnert. Der größte Teil dieser Pseudopodienbildungen ist von hyalinem Ectoplasma eingenommen, nur im innersten Teil erkennt man das bewegliche Entoplasma. Es hat dies seine Ursache darin, daß diese Pseudopodien eine sehr geringe Dicke haben, daß sie in Form von ganz feinen Lamellen ausgestreckt werden (vgl. Fig. A, auch Fig. 1 und besonders Fig. 3 der Tafel XVII).

Die spitze, zipfelförmige Gestalt der Pseudopodien, welche bei der Bewegung gebildet werden, ist jedenfalls für die Art charakteristisch. Aber sogar bei den Bewegungspseudopodien zeigen sich schon Formvariationen. Fig. B zeigt ein Exemplar, bei welchem die Pseudopodien nur an einem Ende des Tieres gebildet sind und ziemlich dick und entoplasmareich sind; immerhin sind sie immer noch spitz dreieckig.

Bei dem Exemplar der Fig. C, welches ebenfalls in lebhafter Vorwärtsbewegung begriffen war, sind die Pseudopodien in einem Büschel langer schmaler Zipfel am vorderen Ende znsammengedrängt. In ihrer Form lassen sie kann mehr Beziehungen zu den typischen dreieckigen Pseudopodien erkennen.

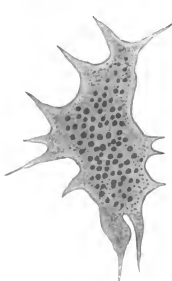


Fig. A.

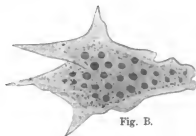


Fig. B.



Fig. C.

Fig. A u. B. Typische Bewegungsformen von *Amoeba respertilio*.
Fig. C. Zipfelform derselben Amöbe.

Schon die drei bisher beschriebenen Formen, welche unsere Amöbe annehmen kann, wären früher als drei differente Amöbenarten bezeichnet worden. So sehr weichen sie nicht nur im äußeren Umriß, sondern auch im gegenseitigen Verhalten von Ecto- und Entoplasma voneinander ab. Während das Stadium der Fig. A ein breites klares Ectoplasma entwickelt hat, wobei die Pseudopodien fast ausschließlich aus solchem gebildet sind, finden wir in dem Stadium der Fig. C nur einen ganz minimalen ectoplasmatischen Saum; die Pseudopodien führen bis in ihre Spitzen hinein eine zentrale Masse von leichtflüssigem Entoplasma. Fig. B nimmt auch in dieser Beziehung eine mittlere Stellung ein.

Hätte ich die verschiedenen Formen nicht während der 8 Monate, während deren ich das Tier bisher in Kultur habe, immer wieder

auftreten sehen, und hunderte Male beobachtet, so würde auch ich nicht geglaubt haben, immer dieselbe Art vor mir zu haben. Und noch mehr gilt das für die Formen, welche ich jetzt beschreiben werde.

Schon Fig. C repräsentiert eine Form, welche die von mir untersuchte Amöbe bei gutem Ernährungszustand in sauerstoffreichem Wasser häufig annimmt. Unter den gleichen Bedingungen sieht man aber auch oft die meisten Individuen einer Kultur in der Form der *Amoeba radiosa* eine sehr charakteristische Ruhestellung einnehmen. Und zwar geschieht dies besonders dann, wenn man das Wasser des Kulturgefäßes durch leises Schankeln in Bewegung versetzt hat. Dann erscheint der ganze Boden der Kulturschale wie mit hunderten von kleinen Sternchen bedeckt. Diese sternförmigen Amöben können nach zwei verschiedenen Typen gebaut sein. Der erste wird durch die Figuren D und E, der zweite durch Fig. F, G und H repräsentiert.

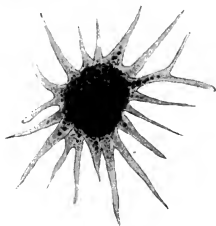


Fig. D.

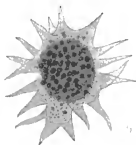


Fig. E.

Fig. D u. E. *Amoeba vespertilio* in der starren Radiosaform. Formen mit hyalinen, ectoplasmatischen Pseudopodien.

Im ersteren Fall ist fast das ganze Entoplasma des Tieres zu einer kugeligen Centralmasse zusammengezogen, von welcher nach allen Seiten spitze ectoplasmatische Pseudopodien in großer Zahl (oft 40–60) ausstrahlen. Manchmal sind sie kurz, spitz-dreieckig und sehr hyalin (Fig. E), in anderen Fällen sind sie sehr lang, dann oft gegabelt, auch kann man dann vielfach einen gewissen Anteil

des Entoplasmas an ihrem Aufbau nachweisen (Fig. D). Stets zeigen sie jedoch eine gewisse Starrheit, die Tiere können gerollt und geschüttelt werden, ohne daß sie die Pseudopodien einziehen; auch können sie ohne Schwierigkeit konserviert werden mit voller Erhaltung der schönen Sternformen. Hervorzuheben ist, daß die Tiere in dieser Stellung sich nicht bewegen, an keiner Unterlage haften, sondern vielmehr heliozoenartig im Wasser schweben. Sie nehmen auch in diesem Zustand keine Nahrung auf.

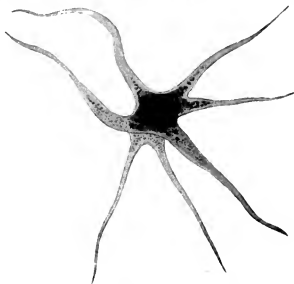


Fig. F. Bewegliche Radiosaform von *Amoeba vespertilio*.

Etwas beweglicher sind die Amöben in den Zuständen, welche in den Figuren F, G und H abgebildet sind. Bei ihnen ist auch manchmal das Entoplasma in einem centralen Klumpen zusammengeballt; doch ist das nicht immer der Fall; stets beteiligt es sich auch am Anfbau der Pseudopodien.

Hervorzuheben ist, daß auch diese Zustände unserer Amöbe jene eigentümliche Starrheit zeigen, von der ich soeben sprach. Diese Starrheit ist natürlich keine absolute, aber es bedarf ziemlich kräftiger Reize, um die Tiere zur Bildung breiter Pseudopodien zu veranlassen.

Es liegt nahe, an einen Zusammenhang zwischen dem Sauerstoffreichtum des Wassers und dieser *Radiosa*-Form der Amöbe zu denken.

Denn es ist ja diejenige Form des Tiers, bei welcher eine maximale Oberflächenentwicklung erreicht wird, welche für die Aufnahme des Sauerstoffs aus dem umgebenden Medium von Vorteil sein muß. Wahrscheinlicher als ein solcher teleologischer Zusammenhang scheint

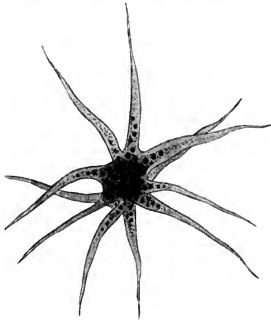


Fig. G.



Fig. H.

Fig. G u. H. Bewegliche Radiosaform von *Amoeba vespertilio*. Typus mit flüssigeren, entoplasmahaltigen Pseudopodien.

mir ein Einfluß der chemischen Zusammensetzung des Mediums auf die Oberflächenspannung, wie wir ihn nachher im experimentellen Teil zu besprechen haben werden.

Dort werden wir auch noch einige andere Zustände der Amöbe zu erwähnen haben, welche man bei längerer Beobachtung in den Kulturen ebenfalls gelegentlich unter normalen Verhältnissen antrifft. So die abgestumpften, pseudopodienarmen Gestalten der Fig. L, M und N. Sie sind besonders an sehr großen Individuen zu finden, welche träge Bewegungen ausführen und ein relativ dickflüssiges Plasma aufweisen.

Aus diesen Zuständen kann die Amöbe in die Formen mit langen dünnen oder mit breiten eckigen Fortsätzen unter eruptiver

Pseudopodienbildung übergehen (Fig. J). Dabei entstehen oft stumpfe, lappige Pseudopodien, ähnlich denjenigen der *Amoeba proteus* (Rös.). Gar nicht selten bilden die Amöben auch flache Scheiben, von welchen nach allen Seiten spitze dünne Pseudopodien entspringen. Indem hier zwischen den einzelnen Pseudopodien ein Zwischenraum bleibt (s. Fig. K), entsteht eine Amöbenform, welche viel mehr an *A. polyopodia* als an *A. radiosa* erinnert.

Und schließlich kann die Amöbe auch noch beim Einschließen von Nahrungskörpern z. B. Algen, Würmern, Rotatorien die abenteuerlichsten Gestalten annehmen.

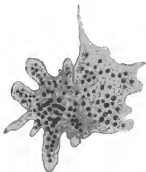


Fig. J. *Amoeba vespertilio*, gewöhnliche Form, plötzlich ein Büschel lappiger Pseudopodien hervorschießend.



Fig. K. *Amoeba vespertilio* in der Polypodiaform.

Es hat also diese Amöbe viel weniger eine typische Form als z. B. *Amoeba proteus*, welche wohl unter den einkernigen Amöben die bestdefinierte Art ist. Ja, wir sehen bei längerer Kultur sie Formen annehmen, welche sie zahlreichen der früher von verschiedenen Autoren beschriebenen Amöben sehr ähnlich erscheinen läßt. So gemahnen Zustände, wie die der Fig. E sehr an *Amoeba verrucosa*, Fig. F u. G an *Amoeba radiosa*, Fig. K an *Amoeba polyopodia*, und ich habe auch Exemplare gesehen, welche *A. limax* und *A. guttula* sehr ähnlich waren.

Auch das Aussehen des Plasmas und das Verhältnis von Ecto- und Entoplasma zueinander läßt sich nicht zur Charakterisierung heranziehen; denn wie wir noch des weiteren im experimentellen Teil sehen werden, wechselt es sehr nach den Existenzbedingungen. Im allgemeinen sehen wir das Entoplasma stets viele stark licht-

brechende Grannla von geringer Größe enthalten. Manchmal nimmt der Reichtum an größeren Granulationen in einer auffallenden Weise zu. Das Aussehen des Entoplasmas ist daher ein sehr wechselndes.

Somit stehen wir hier in einem ganz extremen Fall all den Schwierigkeiten gegenüber, welche sich dem Forscher bei der Identifizierung von Amöbenarten in den Weg stellen. Wie schon viele frühere Amöbenuntersucher hervorgehoben haben, dürften viele der früher unter den Namen *A. limax*, *guttula*, *polypodia*, *radiosa*, *verrucosa* usw. in der Literatur immer wieder erwähnten Arten nur Zustände irgend einer nicht genauer festzustellenden amöboiden Protozoenform gewesen sein. Gelegentlich beobachtete einzelne Individuen sind nicht bestimmbar. Nur durch länger dauernde Züchtung läßt sich bei dem gegenwärtigen Stand unseres Wissens für die meisten kleineren Amöbenarten ein Erscheinungskomplex feststellen, der zu einer ganz sicheren Identifizierung der Art führen kann. Und wie SCHAUDINN und ich schon hervorgehoben haben, werden wahrscheinlich manche bisher als Amöben beschriebene amöboide Organismen sich als Zustände anderer Protisten herausstellen und ganz aus der Ordnung der Amöbinen ausgeschaltet werden.

Immerhin nehme ich auf Grund meiner eigenen Erfahrungen als wahrscheinlich an, daß eine größere Anzahl von Arten sich als echte Amöben werden definieren lassen. Dazu bedarf es aber noch intensiven Studiums und es wird notwendig sein, mit großer Vorsicht zu Werke zu gehen, um nicht die Ursachen von Verwechslungen zu vermehren. Daher erscheint es mir wünschenswert, die in der älteren Literatur immer wiederkehrenden Namen *Amoeba limax*, *A. polypodia* und *A. radiosa* möglichst zu vermeiden, wenn es sich um die Bezeichnung von Spezies handelt; dagegen kann man diese eingebürgerten Bezeichnungen sehr gut für die Beschreibung gewisser Zustände, wie sie bei den meisten Amöbenarten vorkommen, verwenden und von der Radiosaform oder Limaxform einer Amöbe sprechen, wie man von dem Piliidium oder der Zoëa spricht. Durch diesen Vergleich will ich natürlich nicht andeuten, daß ich diese Zustände für Entwicklungsstadien halte, vielmehr dürfte es sich in den meisten Fällen um physiologisch bedingte Formen handeln.

Es empfiehlt sich also, für die in ihrem ganzen Entwicklungszyklus erkannten und dadurch genau definierbaren Amöbenarten ganz neue Namen zu wählen, wenn nicht zufällig die Znrückführung auf einen früher gegebenen Namen mit großer Sicherheit vorgenommen werden kann, wie bei *Amoeba proteus*, *Pelomyxa palustris* und gewissen

parasitischen Amöben. Nur so werden sich zahllose Verwechslungen und Unklarheiten vermeiden lassen.

In dem Fall der von mir studierten Amöbe ist die Entscheidung eine relativ einfache, indem sich die Form mit einer gewissen Sicherheit, wenn auch nicht ganz ohne Willkür auf eine von PENARD (01) unter dem Namen *Amoeba vespertilio* beschriebene Art beziehen läßt. Ich vermeide es gern, die Art mit einem ganz neuen Namen zu belegen, da die *A. vespertilio* (PENARD) in der Literatur seit ihrer ersten Beschreibung noch keine Rolle gespielt hat und daher auch ein Irrtum in der Identifizierung durch mich keine weittragenden Folgen haben könnte.

PENARD (01) beschreibt seine *A. vespertilio* folgendermaßen: „Sie ist außerordentlich wechselnd, aber wie sie auch aussehen mag, mit Ausnahme von vorübergehenden Zuständen, sind die Pseudopodien immer konisch und eckig; ihr Ende ist im allgemeinen scharf zulaufend; manchmal kann sich die Spitze für einen Moment abrunden.“ Am häufigsten findet man sie nach diesem Autor in einer Gestalt, welche an einen Entenfuß oder Fledermausflügel erinnert (vgl. meine Abbildung Taf. XVII Fig. 3). Auch er beschreibt Individuen, welche sternförmig gestaltet waren und hebt hervor, daß sie in diesem Zustand nicht von der *Amoeba radiosa* zu unterscheiden sind. Er bemerkt ferner, daß der vieleckige Zustand der häufigere, der strahlige der seltenere ist. Von Plasmaeinschlüssen erwähnt er sehr feine grünliche Körnchen und größere Exkretionskörner.

Den Kern beschreibt er als sphärisch mit großem, kompaktem, und ganz feinpunktiertem „Nucleolus“. In einem Exemplar fand er eines Tages zwei Kerne. Schließlich erwähnt er eine contractile Vacuole, an ihrer Stelle oft zwei bis drei, von denen eine die größte ist, und im Plasma viele kleinere Vacuolen.

Aus dieser Beschreibung geht hervor, daß alle auffallenden Merkmale den von PENARD und von mir beobachteten Amöben gemeinsam sind. Ich entnehme daraus die Berechtigung, meine Amöbe mit dem Namen *A. vespertilio* zu bezeichnen. Ich halte ebenfalls eine weitergehende Erörterung, ob die vorliegende Amöbe etwa mit der von MERESCHKOWSKY (1881) beschriebenen *A. angulata* oder mit der von PARONA (1884) beschriebenen *A. digitata* übereinstimmt, wegen der zu kurzen Beschreibungen dieser Autoren für zwecklos. Ebenso scheint es mir nicht möglich, das Tier mit der *Amoeba spumosa* von GRUBER in sicheren Zusammenhang zu bringen. Wenn man also überhaupt einen der schon existierenden Namen für die Amöbe in Anwendung bringen wollte, so war sicher *A. vespertilio* der richtigste.

Ich hoffe, daß die von mir zu gebende Darstellung ihrer Eigentümlichkeiten es ermöglichen wird, von jetzt an die Form mit Sicherheit zu identifizieren.¹⁾

Ich füge den oben gegebenen Daten über *A. vespertilio* noch folgendes bei:

Die Größe der einzelnen Individuen war sehr wechselnd, während die gewöhnlichen in Bewegung befindlichen Zustände einen Längsdurchmesser von 220–250 μ und einen Breitendurchmesser von 40–60 μ erreichen konnten, war der Durchmesser eines sternförmigen Individuums mit kurzen Pseudopodien (Fig. D und E) meist ungefähr 60–80 μ , derjenige eines solchen mit langen Pseudopodien (Fig. F und G) in der Regel ungefähr 80–150 μ . Der Durchmesser des Kerns betrug im Mittel 10–15 μ , derjenige des Binnenkörpers 7–10 μ .

Die Plasmastruktur ist je nach den physiologischen Zuständen des Tieres sehr wechselnd. Insbesondere gilt dies für die größere Struktur. Die beweglichen Individuen, welche eifrig fressen, haben ein von zahlreichen Vacuolen durchsetztes Entoplasma, welches sehr beweglich und vom Ectoplasma deutlich abgesetzt ist. Die sternförmigen Individuen und diejenigen, welche nach der Infektion mit Zoochlorellen nicht mehr regelmäßig größere Objekte fraßen, hatten das Entoplasma von einer großen Anzahl kleiner Vacuolen durchsetzt, deren Größe nur ca. 4–8 μ erreichte, etwa der doppelte Durchmesser der Zoochlorellenzellen. Ihr Inhalt unterschied sich in seinem Lichtbrechungsvermögen sowohl vom Plasma, als auch von dem Inhalt der contractilen Vacuole, als auch vom umgebenden Wasser sehr erheblich. Es war eine milchig trübe Masse, in den meisten Fällen allerdings noch durchsichtig, in anderen nur mehr durchscheinend.

Wohl davon zu unterscheiden sind die viel kleineren Alveolen der feineren Protoplasmastruktur, welche an den flach ausgestreckten Pseudopodien der beweglichen Individuen besonders deutlich im Leben nachweisbar sind. Die jungen Individuen der *Amoeba vespertilio* sind übrigens geradezu ein Musterobjekt für die Beobachtung der Schaumstruktur des Protoplasmas am lebenden Objekt (s. Fig. L).

Wie schon NERESHEIMER (1905) für die von ihm beschriebene *Amoeba doleini* hervorgehoben hat, so ist auch bei *A. vespertilio* das Aussehen des Plasmas bei den jungen Tieren von demjenigen der

¹⁾ Zusatz bei der Korrektur. Im V. Band dieser Zeitschrift (1905) hat H. SCHOUTEDEN die *A. angulata* von MERESCHKOWSKY besser zu charakterisieren gesucht. Seine Darlegungen scheinen mir auch dafür zu sprechen, daß die von mir studierte Amöbe nicht mit *A. angulata* MEN. identisch ist.

alten Tiere abweichend. Es ist bei den kleinen aus einer multiplen Teilung frisch hervorgegangenen Tieren sehr stark lichtbrechend, zähflüssig und erfüllt von zahlreichen, sehr kleinen, stark lichtbrechenden Körnchen. Die Tiere sind sehr langsam in ihren Bewegungen und zeigen, wie in Fig. O veranschaulicht, eine vollkommen klare, ganz gesetzmäßige Anordnung der Alveolen.



Fig. L. Junges Individuum von *Amoeba vespertilio* mit deutlicher, am lebenden Tier leicht wahrnehmbarer Schaumstruktur.

Die erwachsenen Individuen haben in ihrem Entoplasma eine Unmasse sehr feiner, sehr stark lichtbrechender Körnchen, welche mit dem flüssigsten Teil des Entoplasmas oft weit in den Achsen dünner Pseudopodien peripherwärts wandern. Diese Körnchen sind sehr charakteristisch für das Aussehen der Amöbe.

Eine contractile Vacuole ist stets vorhanden; sie füllt sich ziemlich langsam (10–20 Minuten) und entleert sich plötzlich durch eine weite, kraterartige Mündung, welche mehrere Sekunden offen bleibt, um dann unter eigentümlicher Fältelung ihrer Wände zusammenzusinken.

Die Umfließung von Nahrungsbestandteilen erfolgt genau in derselben Weise, wie dies von den übrigen Amöbenformen oft beschrieben wurde. *Amoeba vespertilio* frisst sowohl kleine Algen,

Bakterien, Diatomeen, Pilze, als auch Larven und Eier von kleinen Tieren: Crustaceen, Würmern, Rotatorien. In ganz ähnlicher Weise, wie dies RHUMBLER (98) beschrieben hat, sah ich sie sich an langen Algenfäden entlangfressen, oder Teile aus deren Mitte herausverdauen. Wenn sie größere Eier oder Larven überzieht oder Algenfäden einhüllt, wird sie ganz deformiert. Als ganz dünne Hülle die betreffenden Opfer überziehend, bequemt sie sich vollkommen deren Form an, so daß oft kaum Substanz zur Bildung einiger kleiner Pseudopodien übrig bleibt. Im Falle, daß Objekte ins Innere der Amöbe aufgenommen und dort verdaut werden, sind sie wie üblich in einer Nahrungsvacuole eingeschlossen, welche monströs groß sein kann, wenn die Amöbe Tiere verschlungen hat, welche ihre eigene Größe, nm das mehrfache übertreffen; so z. B. wenn sie kleine freilebende Nematoden oder Rotatorien aufgenommen hat, was sie sehr häufig tut, in ganz ähnlicher Weise, wie dies NERESHEIMER für *Amoeba doylei* geschildert hat.

Sehr merkwürdige große Vacuolen konnte ich häufig bei den Amöben der Zoochlorellenkulturen feststellen; diese Vacuolen müssen eine relativ feste Substanz enthalten, denn sie werden oft lange Zeit auf kaminartig vorragenden Pseudopodien, in deren distalem Teil sie stecken, wie ein Ei im Eierbecher, emporgehalten (Fig. M).

Die Cystenbildung wird weiter unten, gelegentlich ihrer experimentellen Erzeugung ausführlicher behandelt.

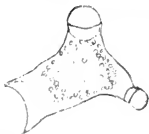


Fig. M.
Eigentümliche Vacuolenbildung
bei *Amoeba vespertilio*.

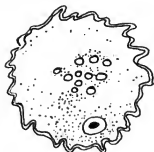


Fig. N.
Ausgefressene *Amoeba vespertilio*
mit doppelt konturierter Hüllschicht.

Hier sei zum Schluß der Beschreibung noch erwähnt, daß die äußerste Hüllschicht des Ectoplasmas ziemlich klebrig ist; es ist leicht mit ihrer Hilfe die Amöbe beim Abtönen am Objektträger anzukleben, auch lassen sich Fäden aus ihr ziehen. Man hat den

Eindruck, als ob eine gallertige Hüllschicht von sehr geringer Dicke das Tier in seiner ganzen Ausdehnung jederzeit überziehe, indem sie wie ein lockerer Sack alle Bewegungen des Protoplasmas mitmacht. Darauf weist auch folgende Erfahrung hin: gelegentlich beobachtete ich abgestorbene Amöben, welche von Bakterien und kleinen Flagellaten angefressen wurden. Dabei blieb die verschrumpelte äußerste Schicht nebst dem Kern übrig; auch einige körnelige Krümel, Plasma- und Nahrungsreste fanden sich noch innerhalb des Sacks (s. Fig. N). Der Sack war deutlich doppeltkonturiert. Ganz auszuschließen ist es in diesen Fällen allerdings nicht, daß es sich um eine Gallertschicht handelte, welche von der Amöbe bei dem Versuch sich zu encystieren, vor dem Absterben ausgeschieden wurde.

B. Experimentelles.

1. Einfluß der Temperatur.

In der Hoffnung die Amöben dadurch zu geschlechtlichen Vorgängen zu veranlassen, wie dies R. HERTWIG und anderen bei verschiedenen Protozoen gelungen ist, setzte ich sie längere Zeit Temperaturen aus, welche von der herrschenden Mitteltemperatur erheblich abwichen. Da der beabsichtigte Erfolg nicht erreicht wurde, so gab ich die Versuche bald auf. Einige der bei dieser Gelegenheit gemachten Beobachtungen sind aber immerhin der Mitteilung wert.

Amoeba vespertilio erwies sich als sehr anpassungsfähig und zwar vertrug sie bemerkenswerterweise hohe Temperaturen besser als tiefe. Noch bei Temperaturen von über 30° C war sie außerordentlich beweglich; ihr Plasma war sehr dünnflüssig, dementsprechend die Pseudopodienbildung sehr reichlich, die Lokomotion sehr rasch. Der Stoffwechsel schien sehr gesteigert, doch war offenbar der Abbau besonders intensiv; denn trotz reichlicher Nahrung wurden die Tiere immer kleiner, bis sie etwa nur $\frac{1}{6}$ ihrer ursprünglichen Größe besaßen.

Eine Kultur lebte wochenlang bei einer Temperatur von fast 37° C, ohne sich irgendwie geschädigt zu zeigen. Als ich nach ca. 4 Wochen den Versuch abbrach, waren noch zahlreiche Individuen am Leben; Ernährung, Bewegung und Teilung war immer regulär vor sich gegangen. Der Versuch ist deswegen von Interesse, weil er zeigt, wie leicht ein solches Tier aus dem saprophytischen

Leben zum Parasitismus in einem Warmblüter übergehen könnte, soweit die Temperatur als Existenzbedingung in Frage kommt.

Bei einer Erniedrigung der Temperatur auf ca. 5°C werden die Tiere sehr träge und langsam. Während bei den Wärmetieren die charakteristischen zackigen Pseudopodien, welche fast nur aus Ectoplasma bestehen, gebildet werden, nehmen die Kältetiere eine unregelmäßig polygonale Form mit schwacher Pseudopodienbildung an. Der Ectoplasmasaum wird ganz schmal, an vielen Stellen ist er kaum sichtbar. Die Tiere fressen sehr wenig; da aber die Vermehrung ebenfalls sehr verlangsamt ist, wachsen sie zum Teil zu sehr bedeutenden Größen heran. Die größten von mir gemessenen Exemplare hatten einen Durchmesser von $300\text{--}400\ \mu$.

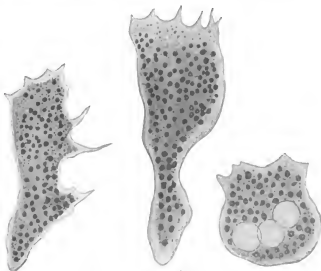


Fig. O.

Fig. P.

Fig. Q.

Fig. O, P, Q. Drei Stadien des zunehmenden Kälteeinflusses. Riesenformen mit ganz geringer Pseudopodienbildung.

Höhere Temperaturen als 37°C führen zur Abkuglung der Amöben und zum Absterben.

Bei tiefen Temperaturen ($+2$ bis 4°C) erstarren die Tiere, entsprechend den Erfahrungen der früheren Autoren, ohne sich vorher abgekugelt zu haben.

Die Kerne der Tiere aus den Wärme- und Kältekulturen waren nicht sehr auffallend verschieden, weder im allgemeinen in der

Größe noch im gegenseitigen Verhalten der Substanzen. Daher, und weil die Versuche zu kurze Zeit hindurch fortgeführt waren, habe ich keine Messungen vorgenommen.

2. Chemische Einflüsse.

Ganz geringe Veränderungen in der chemischen Zusammensetzung des Wassers, in welchem die Amöben gezüchtet wurden, waren von dentlichem Einfluß auf die Tiere. Die verschiedenen Amöbenarten verhalten sich ja in ihren Ansprüchen an die chemische Zusammensetzung des umgebenden Mediums sehr verschieden. Nicht nur daß wir Amöben des Meerwassers von solchen des Süßwassers unterscheiden können und daß wir diesen die parasitischen Formen gegenüberstellen müssen; auch in jedem dieser Medien sind die verschiedenen speziellen Lebensbedingungen von verschiedenen Amöbenarten bevorzugt. Ich sage absichtlich „bevorzugt“, weil sie nicht absolut bedingend sind. Denn auch an die chemische Zusammensetzung der Umgebung sind die meisten Amöben außerordentlich anpassungsfähig, allerdings nicht alle. Man kann Süßwasseramöben durch allmähliche Überführung ans Meerwasser gewöhnen; man kann *Amoeba proteus*, welche besonders gut in etwas fanligen, stark bakterienhaltigen Gewässern gedeiht, auch auf einem Rasen von grünen Algen und Diatomeen züchten. Dagegen ist *Pelomyxa* sehr empfindlich gegen Veränderungen des Mediums; sie lebt in der Regel in schlammigen, stark nach Schwefelwasserstoff oder nach Sumpfgas riechenden Wassern. Eine Verdünnung dieses Mediums ist fast immer tödlich für sie. *Amoeba vespertilio* nun gedeiht besonders gut in klaren Sumpf- oder Moorwassern, welche reich sind an einzelligen Algen und an Diatomeen. Sie ist sehr empfindlich gegen Änderungen des Mediums; wenn z. B. die Fäulnis verwesender tierischer Substanzen, so etwa von Insektenleichen einen gewissen Grad erreicht, kugeln sich alle Individuen in der Kultur ab. Bei Zufuhr frischen Wassers werden die Individuen wieder beweglich und normal; wird das Wasser aber nicht aufgefrischt, oder steigt der Grad der Fäulnis, so verharren die Amöben tagelang im abgekugelten Zustand, um dann, nach Bildung einer großen Vacuole, langsam abzusterben, wobei sie in feine Granula zerfallen. Immer wieder sah ich bei Überfütterung einer Kultur diese nämliche Erscheinung auftreten, und wurde anfangs öfter durch sie getäuscht, indem ich in der Abkuglung der Amöben eine wichtige Cystenbildung zu erkennen glaubte. Möglicherweise war es nur die Ansäuerung des Wassers, welches

das Phänomen der Abkuglung herbeiführte. Säuren wirken ja sehr intensiv auf *Amoeba vespertilio*; schon ganz schwache Lösungen von Salzsäure lassen die Amöbe in der Stellung, welche sie momentan einnimmt, plötzlich erstarren. Es ist daher sehr leicht, *Amoeba vespertilio* mit ausgestreckten Pseudopodien zu konservieren, wenn man Pikrinessigsäure oder angesäuerte Sublimatlösung verwendet.

Ganz anders verhält sie sich in alkalischen Lösungen. Da werden die Pseudopodien zunächst breitlappig; das Tier, welches auf jeglichen Reiz sich ja zunächst zu kontrahieren sucht, streckt nach der Überführung in alkalische Lösung ganz langsam stumpfe, träge Pseudopodien aus; nach einiger Zeit beginnt aber eine Anzahl der Individuen eine merkwürdige Erscheinung zu zeigen. Am Hinterende bilden sich dichte Büschel ganz feiner kurzer fingerförmiger Pseudopodien, welche der Amöbe ein sehr eigentümliches Aussehen geben (Fig. R).

Alle diese Beobachtungen wurden gelegentlich gemacht, verdanken nicht planmäßigen Experimenten ihre Feststellung. Ebenso ist eine Beobachtung zufällig gemacht worden, welche zeigt, welchen Einfluß der Salzgehalt des umgebenden Mediums auf die *Amoeba vespertilio* hat. Wenn ich die Tiere unter dem Deckglas oder im hängenden Tropfen züchtete, so wurden die sämtlichen Individuen nach einiger Zeit klein, sternförmig mit langen, fadenförmigen Pseudopodien und ihr Plasma war sehr zähflüssig. Ich bringe dies in Zusammenhang mit der durch den steten Ersatz des verdunsteten Wassers gesteigerten Konzentration des Salzgehaltes in dem Kulturtropfen.

Für die Deutung dieser Erscheinungen verweise ich auf die Versuche von VERWORN und besonders von RUMBLER, dessen wichtige theoretische Erörterungen die Gestaltveränderungen bei den Amöben auf Änderungen der Oberflächenspannung zurückführen. Meine Versuche stimmen in ihrem Resultat sehr gut mit seinen Anschauungen überein.



Fig. R. *Amoeba vespertilio*
nach Einwirkung von verdünnter
Kalilauge.

3. Die Encystierung.

Langsam auftretende schädigende Einflüsse führen die Bildung einer Cyste herbei. Doch ist es mir nicht gelungen, die Bildung einer Dauercyste vollkommen experimentell zu beherrschen.

Ist der schädigende Einfluß zu heftig, so stirbt die Amöbe ab, ohne vorher eine Cyste gebildet zu haben. Dann sehen wir die mehr oder minder abgekugelten Tiere oft tagelang in der Kultur liegen, ohne daß zunächst eine Veränderung an ihnen wahrnehmbar ist; dann treten im Innern große Vacuolen auf, das Plasma wird sehr stark lichtbrechend, schließlich platzt das Ectoplasma an irgend einer Stelle; das flüssige Entoplasma quillt hervor, und nach einigen Stunden findet sich an Stelle der Amöbe nur ein Körnerhaufen, welcher Reste der Nahrungspartikel umschließt und welcher dann von Bakterien und kleinen in der Kultur vorhandenen Protozoen zerstört wird.

Das geschieht bei Nahrungsmangel, Sauerstoffmangel, Anhäufung von Zersetzungsprodukten in der Kultur, Zusatz von Alkali, zu starker Erwärmung der Kultur usw. In manchen Kulturen ist aber eine große Neigung zur Cystenbildung vorhanden. Da genügt schon die Übertragung der Amöben auf den Objektträger, um diese einzuleiten. Aber alle die oben genannten Schädigungen haben denselben Effekt, wenn ihr Einfluß sich nicht zu plötzlich geltend macht und nicht zu rapid ansteigt. Genau in derselben Weise verhalten sich Individuen, welche von Parasiten befallen sind, auch bei ihnen ist die Neigung sich abzukugeln, eine sehr große.

Die Encystierung geht bei *Amoeba vespertilio* folgendermaßen vor sich: das Tier zieht seine Pseudopodien ein und kugelt sich unter Ausstoßung einzelner Fäkalballen zu einer ziemlich vollkommenen Kugel ab. Sehr bald schon erscheint sie von einer doppeltkonturierten Hülle umgeben, welche wasserbell durchsichtig ist und eine weiche Konsistenz besitzt (vgl. Taf. XVII Fig. 6). Ringsum erscheint eine solche Cyste von Fortsätzen bedeckt, welche fast wie kurze, feine Pseudopodien aussehen. Sie sind manchmal breit, lappenförmig, manchmal dünn fingerförmig, oft distal verbreitert und in Zipfel geteilt und sehr feingezackt (Taf. XVII Fig. 6G). Während ihrer Entstehung sind sie offenbar zähflüssig und klebrig. Dieselbe Konsistenz scheint die doppeltkonturierte Cystenhülle zu besitzen, von deren Außenseite sie entspringen.

Der Amöbenkörper ist innerhalb dieser Cysten klar, durchsichtig; man erkennt beim lebenden Tier mit Leichtigkeit den Kern

und eine große exzentrisch gelegene Vacuole (Taf. XVII Fig. 6cv). Eine solche Vacuole kann allmählich sehr groß werden und den Kern ganz auf die Seite drängen.

Oft ist auch eine größere Anzahl von stark lichtbrechenden Körnern im Plasma der Cysten wahrnehmbar, welche — auch bei solchen Cysten, welche später die freie Beweglichkeit wieder erlangen — intensive tanzende Molekularbewegung ausführen. Strömungen im Plasma sind auch nachweisbar, welche den Kern in den verschiedenen Regionen der Cyste herumführen. Doch tritt keine intensive Rotation und Durchmischung des Cysteninhalts ein.

An den gefärbten Präparaten von solchen Cysten — ich habe ihrer hunderte untersucht — ließ sich am Kern und Plasma keine wichtige Veränderung erkennen. Der Kern war meist durch die große Vacuole gegen die Peripherie gedrängt und stets in der Einzelzahl im Ruhezustand. Das Plasma des Amöbenkörpers färbte sich ganz schwach und hielt trotz der Cyste den Farbstoff nicht intensiver fest, als dasjenige der freien Amöben.

Nur in jenen Kulturen, in denen die multiple vegetative Teilung nachgewiesen wurde (s. unten), waren außer den einfach abgekugelten oder lappigen Individuen mit mehreren Kernen auch solche mit einer dünnen Cystenhülle vorhanden, bei denen die Kernzahl bis auf 8 vermehrt war.

Bei den hier geschilderten gewöhnlichen Gallertcysten jedoch handelte es sich nur um vorübergehende Bildungen, welche nicht mit Fortpflanzungszuständen in Zusammenhang waren und welche auch in allen von mir beobachteten Fällen nicht zur Bildung von Dauercysten führten.

Vielmehr gingen aus den isolierten Cysten immer nach einigen Tagen, wenn günstige Verhältnisse ihnen geboten wurden, freie Amöben hervor, und zwar aus jeder Cyste nur eine Amöbe. Ich hebe dies ausdrücklich hervor, um den Unterschied gegenüber den unten zu beschreibenden Abkugelungen vor der Teilung und gegenüber den eigentümlichen vorübergehenden Cysten bei *Amoeba proteus* hervorzuheben, aus welcher letzteren immer zwei Individuen hervorgehen.

Beim Übergang in den beweglichen Zustand schien mir die gallertige Masse der Cyste direkt auf die Hüllschicht, welche die Körperoberfläche der freien Amöbe bedeckt, überzugehen. Jedenfalls war keine verlassene Cystenhülle nachweisbar. Allerdings ist auch die Möglichkeit zuzugeben, daß die gallertige Substanz sich nicht an der Oberfläche des in Bewegung übergehenden Amöbenkörpers

ansbreitet, sondern vom Ectoplasma resorbiert wird. Da aber eine fadenziehende Substanz jederzeit auf der Oberfläche der *Amoeba vespertilio* nachweisbar ist, so erscheint es mir wahrscheinlicher, daß überhaupt die Bildung dieser temporären Cysten ausschließlich auf Kosten dieser stets vorhandenen, aber im Fall der Not vielleicht in größerer Menge abgeschiedenen Substanz erfolgt. Auf solche Gallert- und Schleimbildungen bei verschiedenen Rhizopoden des Süßwassers will ich in einer der nächsten „Studien“ zurückkommen.

Auf die Beziehungen dieser temporären Cysten zu den Dauerzuständen der *Amoeba vespertilio* und zu ihrer geschlechtlichen Fortpflanzung kann ich an dieser Stelle noch nicht eingehen.

4. Die Infektion der *Amoeba vespertilio* mit Zoochlorellen.

Im Oktober 1906 setzte ich in ein Kulturgefäß, in welchem ich einige durch Zoochlorellen grün gefärbte Exemplare von *Frontonia leucas* zerdrückt hatte, eine Anzahl meiner Amöben. Dieselben fraßen von den Resten der Frontonien und infizierten sich auf diese Weise mit den Zoochlorellen. Nachdem sie eine Zeitlang kümmerlich davongekommen waren, begannen sie plötzlich sehr gut zu gedeihen. Sie wuchsen sämtlich auf eine Größe heran, welche die frühere Durchschnittsgröße nicht nennenswert übertraf und vermehrten sich lebhaft durch Zweiteilung. Seit Oktober 1906 bis Mai 1907 haben sich diese Kulturen — aus der einen sind mittlerweile mehrere geworden — ausgezeichnet gehalten. Die sämtlichen Nachkommen sind während dieser 8 Monate infiziert geblieben; die grünen Sterne, welche die Kulturen erfüllten, boten stets einen sehr reizvollen Anblick dar. Andere Amöben, welche ich zu den Kulturen setzte z. B. *A. proteus* haben sich bisher noch nicht infizieren lassen.

Die Zoochlorellen sind kreisrund und haben einen Durchmesser von 3–4 μ . Im Entoplasma der Amöben sieht man sie nicht selten in Teilung. In ihrem Innern sieht man verschiedene färbbare Gebilde, welche als Kern und Chromatophoren zu denken sind. Ihr Verhältnis zur Größe der Amöbe und ihre Lagerung im Amöbenkörper ist am besten aus den Fig. 1–5 der Taf. XVII sowie aus den Textfiguren A–K zu entnehmen.

Das Entoplasma der Amöben ist gepfropft voll von ihnen. Wenn ich die infizierten Amöben dem Lichte aussetzte, dabei sie vor allzu greller Bestrahlung durch die Sonne bewahrte, so wuchsen die Kulturen außerordentlich kräftig heran und enthielten schließlich viele Tausende von Amöben. Trotz der Zoochlorellen fraßen sie

eifrig alle möglichen organischen Substanzen und kleine Tiere; doch sah ich die grünen Amöben selten so große Tiere angreifen, wie ich das von den nichtinfizierten oben beschrieben habe.

Ähnlich wie dies GRUBER für seine *Amoeba viridis* beschrieben hat, konnte meine Amöbe infolge ihrer Zoochlorelleninfektion lange Zeit ohne Nahrung aushalten. Daher brachte ich sie viel leichter durch, als ihre farblosen Artgenossen. Nachdem diese in meinen Kulturen schon längst ausgestorben waren, gediehen meine grünen Amöben noch ausgezeichnet weiter. Infolgedessen habe ich die Mehrzahl meiner Beobachtungen, besonders jene über die Teilung des Zelleibs und die Mitose des Kerns an zoochlorellenhaltigen Individuen gemacht.

Junge Amöben, welche aus Cysten zoochlorellenhaltiger großer Individuen durch multiple Teilung hervorgingen, hatten oft keine Zoochlorellen mehr. Wie dies zu erklären ist, habe ich nicht vollkommen ergründen können, da die Cysten Zoochlorellen enthalten. Bei zoochlorellenhaltigen Tieren habe ich die multiple Teilung seltener beobachtet, als bei den farblosen.

Beim Heranwachsen in den Kulturen infizieren sich die jungen Amöben bald wieder mit den grünen Algenzellen; doch ist das Wachstum bis dies geschehen ist, ein ziemlich langsames. Dann erst beginnt ein rapideres Tempo.

C. Die agame Fortpflanzung.

1. Die Zweiteilung.

Für die meisten Amöben ist bisher die gewöhnliche Zweiteilung im lebhaft beweglichen Zustand angegeben worden. Dabei konnte in der Regel eine mitotische Teilung des Kerns nicht nachgewiesen werden, so daß meist in den Lehrbüchern die Vermehrung des Kerns durch amitotische Teilung behauptet wird. SCHUBOTZ (05) gibt eine ausführliche Besprechung aller bis 1905 vorliegenden Arbeiten über Teilung und Kernteilung bei den Amöben. Aus dieser geht hervor, daß die neueren Untersucher bei immermehr Formen eine mitotische Kernteilung nachweisen konnten. SCHAUDINN gibt eine solche für *Amoeba binucleata*, AWERINZEFF für *Amoeba proteus* an; nach den in diesem Heft mitgeteilten Untersuchungen von WENYON ist auch bei *Entamoeba muris* die Kernteilung bei der gewöhnlichen agamen

Zweiteilung eine primitive Mitose. Schließlich hat auch VAHLKAMPF für seine *Amoeba limax* eine mitotische Kernteilung beschrieben. Somit bleiben von Amöben, bei denen eine amitotische Kernteilung angegeben wird, nur übrig: *Amoeba polypodia* nach F. E. SCHULZE, *A. crystalligera* nach SCHAUDINN und *Entamoeba coli* nach SCHAUDINN. Ich glaube, daß auch diese Angaben sich nicht werden bestätigen lassen. Und zwar bieten meine sogleich mitzuteilenden Ergebnisse den Schlüssel dafür, warum die direkte Teilung des Amöbenkörpers und -kerns in allen ihren Phasen so selten beobachtet wurde, und warum es so leicht geschieht, daß die Kernteilung ganz übersehen oder für eine Amitose gehalten wird.

In reich besetzten Kulturen der *Amoeba respertilio* finden sich immer einzelne Individuen, welche in ihrem ganzen Aussehen sich sehr von all den oben beschriebenen und abgebildeten Zuständen unterscheiden. Sie erinnern noch am meisten an die sternförmigen Exemplare vom Radiosatyrops, wie sie in Fig. E abgebildet sind. Auch hier ist das Entoplasma zu einer kugelligen Masse vereinigt, welche nach allen Seiten kurze Pseudopodien aus sich hervorgehen läßt; diese sind vollkommen oder zum größten Teil aus Ectoplasma bestehend. Auch zeigen sie eine ganz geringe Beweglichkeit; die Individuen sind nicht an der Unterlage befestigt, sondern rollen bei der Bewegung des Uhrglases hin und her; auch lassen sie sich leicht mit der Pipette heransfangen.

Was sie aber von allen früher beschriebenen Zuständen der Amöbe unterscheidet, das ist die Form dieser kurzen Pseudopodien. Wie Fig. 39 u. 40 auf Tafel XIX zeigen, sind sie stumpf lappenförmig, immer etwas länger als dick, manchmal distal keulenförmig angeschwollen, nicht selten gegabelt. Nach allen Seiten, wie die Stachel einer Kastanienfrucht abstehend, umgeben sie in ihrer Gesamtheit den dunkleren von Inhaltsgebilden erfüllten eigentlichen Körper der Amöbe wie ein hyaliner Mantel. Bei vielen Exemplaren überwiegt die Masse des centralen Körperanteils viel mehr gegenüber den Pseudopodien, als das bei den in Fig. 39 u. 40 abgebildeten Individuen der Fall ist. Es bilden dann die kurzen lappigen Pseudopodien einen viel schmäleren Saum um das Tier.

Hat man ein solches Individuum auf dem Objektträger isoliert, so kann man mit Sicherheit alle Stadien der Teilung am lebenden Tier verfolgen. Ja ich glaube mich sogar zu der Annahme berechtigt, daß alle Individuen bei der Teilung diese Phase durchmachen. Denn alle so ansehenden Exemplare, welche ich lebend beobachtete, wandelten sich durch Teilung in zwei Individuen um,

alle diejenigen, welche ich konservierte zeigten an Kern und Weichkörper die charakteristischen Kennzeichen der Teilung.

Beobachtet man ein Exemplar, wie es in Fig. 39 abgebildet ist, lebend, so kann man nach wenigen Minuten bemerken, daß es sich in die Länge streckt, so daß es im optischen Durchschnitt oval erscheint. Sowohl das im optischen Durchschnitt kreisrunde Stadium der Fig. 39 als auch das ovale der Fig. 40 scheinen von oben nach unten etwas abgeplattet zu sein.

Die Pseudopodien zeigen in diesem Stadium eine schwache Beweglichkeit, welche von jetzt an allmählich zunimmt. An jedem Pol, meist heiderseits an der gleichen Seite der Längsachse wird eine Vacuole sichtbar, welche ihre Kontraktionen offenbar nur sehr langsam ausführt. Im Plasma der centralen Masse ist eine träge Bewegung nachweisbar, welche allmählich besonders in der Gegend der zur Längsachse senkrechten Medianebene, also des Äquators der ganzen Bildung, zunimmt. Hier bildet sich eine Ringfurche aus, es tritt eine Aufhellung ein, indem das Entoplasma sich nun nach den beiden Enden zu konzentriert. Das ganze Gehilde wird, indem die beiden Enden knollig anschwellen, hisquitförmig (Fig. 41). Die nunmehr deutlich markierten künftigen Teilhälften des Tiers schwellen an, so daß das ganze Gehilde jetzt eine erheblich größere Masse zu haben scheint als vorher. Es ist dies teils dadurch bedingt, daß die Vacuolen (*cv*) stark gewachsen sind, teils auch durch die jetzt wieder beginnende Expansion des Ectoplasmas. Die Pseudopodien nehmen wieder breitere lappige Formen an, die Enden beginnen wieder Zacken und Ecken zu zeigen (Fig. 42).

Nun setzt eine allmählich immer stürmischer werdende Bewegung des gesamten Plasmas ein. Zunächst macht sich diese in der Gegend des Äquators bemerkbar, wo eine Menge von lappigen Pseudopodien hervorschießen und einem lebhaften Wechsel ausgesetzt sind (Fig. 42 u. 54). Diese vielen kleinen Pseudopodien greifen alternierend zwischen einander, wie die Finger zweier gefalteter Hände oder die Zähne zweier Zahnstangen. Sie sind in der Hauptsache ectoplasmatisch, und an ihnen wie auch an den jetzt an der ganzen Peripherie auftretenden flachen Pseudopodien kann man vorzüglich am lebenden Objekt die alveoläre Struktur des Protoplasmas erkennen.

In den distalen Abschnitten werden jetzt die Pseudopodien immer länger, an ihrem Aufbau nimmt das Entoplasma, welches jetzt selbst in stürmischer Bewegung sich befindet, immer mehr Anteil. Die jetzt entstehenden Pseudopodien nehmen immer mehr die zackigen Formen an, welche für die *Amoeba vespertilio* charakteristisch sind.

Die Pseudopodien der beiden Tochtertiere beginnen nun auf der Fläche der Unterlage Festheftungspunkte zu suchen und ziehen sodann die Teilhälften immer mehr auseinander. In der äquatorialen Ebene bleiben diese jedoch oft noch längere Zeit durch verschiedene schmale Brücken verbunden (Fig. 42 u. 54), welche nach und nach durchreißen, bis schließlich nur noch eine übrig bleibt (Fig. 43). In diesen Brücken ist deutlich eine längsstreifige Anordnung des Protoplasmas erkennbar.

Die beiden Tochtertiere haben unterdessen immer mehr an Größe zugenommen, indem eine ganze Anzahl von Vacuolen im Entoplasma antrat und dies letztere sich immer mehr verflüssigte. Offenbar war dies durch Flüssigkeitsaufnahme von außen bedingt. Im Zusammenhang damit wuchs auch stets die Beweglichkeit der Tochterhälften in ihrem Gesamtplasma.

Diese ganzen Vorgänge gingen mehr oder minder ruckweise, nicht in kontinuierlicher Folge vor sich. Manchmal schienen alle Teilungsfortschritte für einige Zeit zu sistieren, oft auch ein erreichter Fortschritt wieder rückgängig gemacht zu werden, indem die Teilhälften sich mit einem Ruck wieder enger zusammenschlossen. Manchmal war es deutlich erkennbar, daß dies seine Ursache darin hatte, daß die Pseudopodien ihre Fixationsstelle verloren, worauf die Körperhälften wieder zurückschnellten und mit einem Teil ihres Plasmas wieder verschmolzen.

Doch liefen alle Vorgänge sehr rasch ab. Vom Stadium der Fig. 39 bis zu dem der Fig. 43 pfliegten 15 bis höchstens 45 Minuten zu vergehen.

Auch jetzt — im Stadium der Fig. 43 — kann noch ein plötzlicher Rückschritt den Abschluß des ganzen Teilungsvorganges verzögern. Während er nach der Analogie anderer Fälle in wenigen Minuten abgeschlossen sein sollte, sah ich oft den schmal ausgezogenen Strang, welcher als dünne Brücke die beiden Tochterhälften verband, wieder anschwellen, die beiden Tiere wieder in engere Verbindung untereinander treten und manchmal noch stundenlang vereinigt umherkriechen, ehe die definitive Teilung stattfand. Ein solches Paar ist in der Fig. 3 auf Taf. XVII abgebildet. Tötet man solche Individuen ab und färbt sie, so sind stets zwei fertig ausgebildete Kerne vorhanden, welche keine Anzeichen einer kürzlich überstandenen Teilung in ihrem Bau zur Schau tragen.

In diesen Erscheinungen ist der Grund dafür zu suchen, daß ich anfangs unter tausenden von Individuen kaum einige Teilungsstadien der Kerne fand. Stets wurde an zu späten Stadien die Be-

obachtung begonnen; infolgedessen waren die charakteristischen Teilungsstadien der Kerne schon längst vorbei. Wenn ein ähnlicher Modus der Teilung auch bei anderen Amöben vorkommt, und einige Beobachtungen, welche ich gemacht habe, weisen mich auf diese Annahme hin, so ist leicht zu verstehen, warum bei Amöben bisher die einfache Zweiteilung so selten beobachtet wurde.

Während die äußere Form der *Amoeba vespertilio* die Stadien der Fig. 39—41 durchmacht, gehen in ihrem Innern die meisten Stadien der Kernteilung vor sich. Nachdem ich diesen Zusammenhang einmal erkannt hatte, konnte es mir nicht schwer fallen, diese Stadien zu konservieren und zu studieren. Leider entdeckte ich diese Tatsachen erst, nachdem von meinen Kulturen nur mehr diejenigen, welche mit Zoochlorellen infiziert waren, lebten und gut gediehen. Die Zoochlorellen verdeckten in ihrer Masse vollkommen den Kern, so daß ich am lebenden Tier nichts von ihm bemerken und somit die Teilungsvorgänge am lebenden Tier nicht studieren konnte. Auch war es infolge dieser Massen von Zoochlorellen in den meisten Fällen nicht möglich, die Färbung mit Eisenhämatoxylin oder einem anderen Hämatoxylin anzuwenden. Mit diesen Farbstoffen färbten sich die Algenzellen sehr intensiv, so daß alle Kernstrukturen am Amöbenkern dadurch verdeckt wurden. Infolgedessen war ich auf die Färbung mit Boraxkarmin angewiesen, welche ich an den mit Sublimat oder mit Pikrinessigsäure fixierten Objekten durchführte und welche sehr gute Resultate ergab. Doch stellte sich dabei heraus, daß in dem abgekugelten Individuum sich niemals die frühesten Anfangsstadien der Kernteilung fanden. Diese müssen vielmehr vorher schon begonnen haben. Da ich bisher kein Merkmal gefunden habe, an welchem die zur Teilung sich erst anschickenden Tiere zu erkennen sind, war ich zu ihrer Auffindung auf den Zufall angewiesen, welcher mir auch insofern günstig war, als ich in zwei Fällen ganz frühe Stadien der Mitose auffand, welche für das Verständnis der Amöbenkernteilung von der größten Wichtigkeit sind.

Ich habe oben geschildert, wie der Kern von *Amoeba vespertilio* im Leben aussieht. Auch im konservierten Objekt zeigt er das charakteristische, oft beschriebene Bild der Amöbenkerne. Es ist ein großer, bläschenförmiger Kern mit einem deutlichen, stark färbbaren Binnenkörper (vgl. die Fig. 2 Taf. XVII, 38 Taf. XVIII). Bei stärkeren Vergrößerungen läßt sich sowohl an Boraxkarmin als auch an Eisenhämatoxylinpräparaten sehr schön die feinere Struktur studieren.

Das gesamte Kerngebilde ist meist im optischen Durchmesser kreisrund (Fig. 47 n. 48), manchmal auch oval (Fig. 46); von oben nach unten ist es abgeplattet, wenn auch nicht zu einer vollkommenen Linsenform, wie dies bei *A. proteus* der Fall ist. Die äußere Kontur ist immer sehr scharf, wenn man auch nicht von einer dicken Kernmembran reden kann. In manchen Präparaten sieht allerdings die periphere Masse fast wie eine starke Membran aus; das wird wohl auf eine Schrumpfung bei der Konservierung zurückzuführen sein. Denn bei gut konservierten Objekten kann man sehen, daß die periphere Hüllschicht des Kerngebildes aus einem feinen Netzwerk besteht, welches den Binnenkörper in Form eines Ringes (auf dem optischen Durchschnitt) umgibt. Das achromatische Netzwerk enthält stärker färbbare Partikel; in seiner Gesamtheit ist der periphere Ring aber stets viel blasser gefärbt als der Binnenkörper (s. Taf. XVIII Fig. 15 u. 16), wie er denn auch am lebenden Objekt durch viel geringere Lichtbrechung sich abhebt.

Im lebenden Präparat erscheint auch der Zwischenraum zwischen der Randzone und dem Binnenkörper vollkommen wasserhell; in ihm sind keinerlei Differenzierungen erkennbar. Auch in den gefärbten Präparaten sieht man in diesem Zwischenraum nur einige feine Fäden und Netzen, welche erkennen lassen, daß der Zwischenraum hauptsächlich von Flüssigkeit erfüllt war.

Der Binnenkörper zeigt eine wechselnde Struktur, welche offenbar in Beziehung zu den Stoffwechselvorgängen steht. Im allgemeinen ist eine sehr feine Netzstruktur erkennbar, welche auf einen alveolären Bau schließen läßt. Es ist ein achromatisches Maschenwerk sichtbar, in welches stärker färbbare Partikel von verschiedener Größe, verschiedener Färbbarkeit und wechselnder Lagerung eingestreut sind (Taf. XVIII Fig. 15 u. 16, Taf. XIX Fig. 46 u. 47). Meist ist das Netzwerk sehr fein, ebenso die in ihm eingelagerten Chromatinkörner (Fig. 46 n. 47). Auch finden sich fast immer ein bis zwei stark färbbare größere Klumpen. In anderen Fällen kann die Struktur eine gröbere sein (Fig. 45); es zeigen sich dann nur einige größere Netzmaschen, deren Wände selbst wieder alveolär gebaut sind und das Chromatin teils in feiner Verteilung, teils in klumpenartiger Anhäufung beherbergen. Seltener ist eine ganz feine strangförmige Anordnung der färbbaren Substanz.

In welcher Weise die Spindelbildung sich vorbereitet, ob etwa eine Durchschnürung eines chromatischen Klumpens, wie sie Fig. 47 erkennen läßt, einen einleitenden Schritt darstellt, das kann ich nicht entscheiden. Ebenso wenig ob Stadien wie Fig. 44 bedingt

sind durch die Verteilung des Chromatins auf eine bestimmte Anzahl von Chromosomen. Die ersten deutlichen Teilungsschritte, welche mir zu Gesicht kamen, sind in den Fig. 48 und 49 dargestellt.

Sie zeigen uns ein sehr überraschendes Bild. Das ganze Kerngebilde ist stark vergrößert, auf etwa das Doppelte des gewöhnlichen Umfangs. Senkrecht zur Längsachse verläuft eine schon bei schwacher Vergrößerung wahrnehmbare Streifung. Diese wird — wie sich bei stärkerer Vergrößerung herausstellt — durch zwei Phänomene veranlaßt. Erstens ist die Masse des peripheren Rings in Längszügen angeordnet, indem die Maschen des achromatischen Netzwerks in die Länge gezogen sind (Fig. 48 u. 49 *C*); auch sind die auf ihnen befindlichen stärker färbbaren Partikel in die Länge gedehnt. Zweitens — und das ist bei weitem das auffallendste — ist der Binnenkörper verschwunden und an seine Stelle eine Spindelfigur getreten (Fig. 48 u. 49 *Sp*), welche vollkommen deutlich und wohl abgegrenzt ist. Sie ist an beiden Polen zugespitzt und stößt mit diesen Polen an die membranartige Grenze (Fig. 49 *Nm*) des ganzen Kerngebildes an. An den Berührungstellen ist weder eine Verdickung, Ansammlung von Achromatin, Polplatte, Centrosoma noch eine Andeutung von einer Strahlung zu sehen. Die Spindelfasern sind vollkommen klar und deutlich zu sehen. Sie ziehen von Pol zu Pol durch, man erkennt ihrer ungefähr 8 in der Aufsicht auf die Spindel.

Während die umgebende Substanz nur eine schwache Färbung auch in ihren gröberen Bestandteilen anwies, waren einzelne Bestandteile der Spindel die stärkst gefärbten Stellen im Präparat. Es waren offenbar die Chromatinelemente des Kerns, welche in der Äquatorialplatte (Fig. 49 *A*) in Form von stäbchenförmigen Körnerreihen angeordnet waren. Dieselben waren bei aller Kleinheit durch ihre distinkte Färbung sehr gut zu erkennen. Ich zählte ihrer zwölf, doch ist ein Irrtum nicht ausgeschlossen, da an einigen Stellen zwei Körnerreihen übereinander zu liegen schienen.

Fig. 48 *A* zeigt die Äquatorialplatte in zwei Tochterplatten gespalten, deren Chromosomen viel kürzer und mehr kurz-stäbchenförmig erscheinen. In diesem Fall konnte ich nur neun Paare zählen, wobei die gleiche Fehlerquelle in Betracht kommt, wie im ersten Falle.

In beiden beobachteten Fällen zeigte die Kernteilungsfigur eine bemerkenswerte Unregelmäßigkeit, welche ich nicht erwähnen will. Fig. 49 zeigt unter resp. hinter der Spindel liegend einen kugeligen stark gefärbten Körper (Fig. 49 *Nuk*); ich konnte nicht

mit Sicherheit heransbringen, ob er innerhalb der Kernmembran (*Nm*) lag, oder außerhalb im Zellplasma. Ersteres schien mir eher annehmbar.

Eine ähnliche exzentrische Lage zeigt in Fig. 48 eine ringförmig angeordnete Anzahl stark färbbarer Partikelchen (Fig. 48 *Cd*). Sie sehen beinahe aus wie Chromosomen, sind aber unregelmäßiger geformt und angeordnet als diese. Ob eine Beziehung zwischen den beiden exzentrischen Gebilden (*Nuk* und *Cd*) anzunehmen ist, ob sie überhaupt normale, wesentliche Bildungen sind, oder Kunstprodukte infolge der Konservierung, darüber kann ich vorläufig noch keine Meinung aussprechen.

Wir sehen also jedenfalls beim Beginn der Kernteilung von *Amoeba vespertilio* den Binnenkörper in eine mitotische Kernspindel verwandelt, welche ein amitotisch sich teilender Kernmantel umgibt. Dies gegenseitige Verhalten der Kernbestandteile ist in den weiteren Phasen der Teilung zwar noch nachweisbar, aber nicht so sehr in die Augen fallend und ist daher meist übersehen worden.

In der Amöbe vom Stadium der Fig. 39 zeigt der Kern eine Bildung, wie sie in Fig. 50 dargestellt ist. Die Bestandteile der Kernfigur sind nicht mehr scharf voneinander geschieden. Doch kann man deutlich erkennen, daß die äußere Substanz der Spindel deren centrale Bestandteile wie ein weiter Mantel umfaßt. Noch sind beide Pole scharf zugespitzt und noch lassen sich sowohl in der äußeren als auch in der inneren Schicht Spindelfasern nachweisen, welche von Pol zu Pol ziehen. Übrigens ließen sich bei diesem Präparat, welches mit Eisenhämatoxylin gefärbt war, sehr deutliche Querverbindungen der einander benachbarten Spindelfasern nachweisen, was den Aufbau der Spindel aus längsgestreckten Alveolenzügen verrät. Die ganze Spindelfigur zeigte eine leichte Torsion, welche durch den spiraligen Verlauf und die Überkreuzung der Spindelfasern ersichtlich wurde.

Die Spindel war schon in der Mitte etwas eingeschnürt und zeigte etwa die Form einer Sanduhr mit auf den Endflächen aufgesetzten Kegeln (Fig. 50 *Pm*). Bis an die Basis dieser Endkegel (*Pm*) waren die Tochterplatten des Binnenkörpers verschoben worden (*T₁* u. *T₂*). Bei genauer Aufmerksamkeit konnte man sehen, daß der centrale Teil der Spindelfasern ihnen zugehörte, während die peripheren einen Mantel um sie herumbildeten. Das war besonders deutlich an dem einen Pol, wo die Tochterplatte (*T₂*) bei weitem nicht den von den Mantelfasern umschlossenen Raum ausfüllte.

Die Tochterplatten selbst zeigten die Chromosomen nicht mehr deutlich individualisiert; sie bildeten je einen granulierten Ring.

Die Pole der Spindel waren scharf zugespitzt und zeigten keine Spur von Strahlung oder Centrosomen.

Ein ganz ähnliches Stadium, welches wohl unmittelbar anzuschließen ist, zeigt nach einem weniger gut gefärbten Präparat die Fig. 4 auf Taf. XVII. Hier ist das Chromatin zu einer dichten Platte zusammengedrängt. An dem einen Pol ist am Spindelende eine Verdickung erkennbar, welche ich aber nicht für eine centrosomartige Bildung halte, sondern welche mehr zufällig zu sein scheint (Taf. XVII Fig. 4 *ck*). Die ganz gerade Spindel ist sehr langgestreckt und zeigt keine Spur einer Einschnürung im Äquator. Eine solche, wie sie in Fig. 50 dargestellt ist, verstreicht wohl vollkommen wieder, wenn die Spindel sich in die Länge streckt und die Mantelsubstanz sich nach den Polen zieht.

Das sieht man deutlich an der Fig. 51, welche die Spindel darstellt, welche man in einer Amöbe etwa im Stadium der Fig. 40 vorfindet. Die Spindel ist ganz lang gestreckt, meist in einer eleganten Schwingung ihres Umrisses das Spiel der in ihr tätig gewesenen Kräfte verratend.

Der centrale Teil stellt einen cylindrischen, faserigen Strang von fast ganz gleichmäßigem Durchmesser dar. Nach den Polen zu geht er etwas fächerförmig auseinander. Da lassen sich auch noch einzelne Spindelfasern, in manchen Präparaten sogar sehr deutlich, erkennen (Fig. 51 T_1 u. T_2).

Die Mantelsubstanz erscheint durch aufgetretene Vacuolen stark kolbenförmig aufgebläht, zum Teil ist sie in einer polaren Verdickung angesammelt (Fig. 51 T_1 , Fig. 52 T_2), zum Teil bildet sie Wände und inneres Netzwerk des neu entstehenden peripheren Kernrings der beiden Tochterkerne.

Aus den Tochterplatten beginnen sich die Binnenkörper wieder aufzubauen. Sie werden bläschenförmig, wobei das Chromatin in Form von einzelnen Körnern (ob der Chromosomen?) an den Wänden des Bläschens angelagert ist.

Im weiteren Verlauf der Teilung, in Stadien, welche zwischen denjenigen der Figuren 40, 41 und 42 liegen, reißt dann die Spindel durch (Fig. 53 *Sp*). Die Fasern der Spindel werden allmählich herangezogen, wobei man oft in späten Stadien die Längsstreifung noch deutlich erkennen kann (Fig. 52 *Spr* 1 u. 2). Die Binnenkörper nehmen immer ausgesprochener bläschenförmige Ausbildung an, wobei das Chromatin zunächst noch in kleinen Klümpchen an

der Bläschenmembran ansitzt (Fig. 52 Cr); bald aber, während sich wieder ein achromatisches Netzwerk bildet, wandern die chromatischen Bestandteile in das Innere des Binnenkörpers ein (Fig. 54 N_1 und N_2). Ob dabei die Masse der centralen Spindelfasern in den Binnenkörper wieder aufgenommen wird, kann ich nicht mit Bestimmtheit sagen. Doch ist dies wahrscheinlich; es weisen darauf auch Bilder hin, wie sie in den Figuren 8 der Tafel XVII und Fig. 56 der Tafel XIX abgebildet sind. Da sieht man dem chromatischen Kernteil einen achromatischen Klumpen angelagert, welcher sich deutlich von der Mautelsnbstanz abhebt.

Diese letztere geht scheinbar auf verschiedenen Wegen in ihre normale Lage des Ruhezustands über. Entweder umhüllt sie schon frühzeitig den Binnenkörper von allen Seiten (Fig. 52), oder sie liegt erst als einheitlicher Körper neben dem Binnenkörper, um ihn dann allmählich zu umfassen (Fig. 54 C u. N_2).

Die Kernbestandteile sind nun wieder ein jedes an seinem Orte angelangt, und in der Zeit, während die beiden Tochtertiere sich gänzlich voneinander losmachen, erfolgt die definitive Ordnung der feineren Strukturen. Doch kommt es vor, daß in schon voneinander getrennten Individuen die Binnenkörper noch bläschenförmig sind und randständiges Chromatin aufweisen.

Ganz ähnlich muß offenbar die Mitose bei der von PROWAZEK (1904) beschriebenen und von E. v. LEYDEN und W. LOEWENTHAL näher untersuchten *Entamoeba buccalis* verlaufen. Doch konnte wegen der Kleinheit dieses Organismus (die ganze Amöbe mißt nur 6–32 μ) der Vorgang in seinen Einzelheiten nicht verfolgt werden. Auch ist infolge des gleichen Umstandes die periphere Substanz des Kerngebildes so dünn, daß sie den Eindruck einer dicken Kernmembran macht. Immerhin läßt sich mit ziemlicher Sicherheit angeben, daß die Stadien der Fig. 5 von LEYDEN und LÖWENTHAL meiner Fig. 49 und ihrer Fig. 8 meiner Fig. 50 entsprechen.

Nach meiner Ansicht haben wir noch bei mehr Amöben ähnliche Teilungsvorgänge zu erwarten und die genauere Erforschung wird uns wohl lehren, daß die wenigen bisher noch für Amöben angegebenen Fälle von Amitose in ähnlicher Weise sich erklären lassen.

Amoeba polypodia ist von F. E. SCHULZE nur im Leben untersucht worden; es ist leicht einzusehen, daß die von mir beschriebene Amöbenmitose im Leben kaum anders wie eine Amitose aussehen wird. *Amoeba crystalligera* soll nach SCHAUDINN ebenfalls eine amitotische Kernteilung aufweisen.

Auch für *Entamoeba coli* gibt SCHAUDINN bei der gewöhnlichen Zweiteilung Vermehrung des Kerns durch Amitose an. Nach den Präparaten WEXYONS von der *Entamoeba muris*, welche ich selbst gesehen habe, glaube ich, daß SCHAUDINN, dadurch daß er zu späte Stadien und vielleicht zu stark gefärbte Präparate untersuchte, sich getäuscht hat. Doch kann man natürlich nicht ohne weiteres mit apodiktischer Sicherheit von einer Art auf die andere schließen.

Die von mir soeben beschriebene Kernteilung der *Amoeba vespertilio* ist sicherlich sehr auffallend und interessant. Zwar sind ähnliche Teilungsbilder schon öfters, besonders bei pflanzlichen Organismen beschrieben worden. Auch sind prinzipiell ähnliche Teilungsfiguren bei Gregarinen und bei den Eiern einiger Metazoen bekannt geworden.

Nirgends hat sich aber noch in einer so auffallenden Weise der Vergleich des ganzen Kerngebildes mit einem eigentlichen Kern und einem ihn umgebenden Chromidialring aufgedrängt. Bei manchen der von mir untersuchten Thalamophoren ist der Kern von der Chromidialsubstanz in einer ganz ähnlichen Weise umschlossen, so daß im Ruhezustand eine große Ähnlichkeit mit einem ruhenden Amöbenkern vorhanden ist, dessen Binnenkörper von der peripheren Substanz umschlossen wird.

Ich will auf eine theoretische Deutung meiner Befunde nicht eher eingehen, als bis ich meine Erfahrungen an Thalamophoren, Flagellaten und Ciliaten veröffentlicht habe. Nur das möchte ich hervorheben, daß — wie ich vor kurzem schon aneinander gesetzt habe (DOFLEIN 1907) — die Theorie von der Doppelkernigkeit der Protozoenzellen wegen ihrer allzu morphologischen Fassung mir unannehmbar erscheint. Aus meinen Beobachtungen ziehe ich vorläufig nur den Schluß, daß in den Amöbenkernen färbbare Substanz — also in der üblichen Ausdrucksweise Chromatin — in zwei verschiedenen Formen auftritt; einmal in Chromosomen der Kernspindel, und zweitens in den färbbaren Massen der Mantelsubstanz. Eine ähnliche Verschiedenheit in den färbbaren Substanzen der Spindelfigur hatte ich ja schon in meiner Arbeit über *Noctiluca* (DOFLEIN 1902) hervorgehoben. Sie ist bei vielen Kernen von Tieren und Pflanzen zu erkennen (vgl. z. B. auch die Micronnucleusspindeln von *Didinium* nach PRANDTL (1906)) und ist in der neueren Zeit von vielen Autoren beachtet worden.

2. Die multiple Teilung.

Immer wieder fiel es mir auf, daß in den Kulturen zwischen lanten großen und wohlgenährten Individuen der *Amoeba vespertilio*

plötzlich massenhaft kleine Amöben auftraten, welche offenbar zur selben Art gehörten. Wären sie durch gewöhnliche Zweiteilung entstanden gewesen, so hätten mir bei der beständigen Kontrolle, welche ich den Kulturen angedeihen ließ, die Teilungsbilder bei ihrer Massenhaftigkeit nicht entgehen können. Ich dachte daher sogleich an eine multiple Teilung, konnte eine solche aber am lebenden Objekte nicht beobachten.

Erst als ich eine ganze solche Kultur abtötete, entdeckte ich in den Präparaten Stadien der multiplen Teilung. In den betreffenden Kulturen hatten zahlreiche Individuen solche Gallertcysten gebildet, wie ich sie oben (S. 267) beschrieben habe. Nicht alle waren vollkommen abgekugelt, wie dies in Fig. 6 auf Taf. XVII und Fig. 55 auf Taf. XIX abgebildet ist. Vielmehr waren viele Individuen von unregelmäßiger Form. Alle zeigten aber eine doppelt konturierte Hülle und hatten alle Pseudopodien eingezogen (Fig. 56 n. 57). Sie unterscheiden sich dadurch sehr wesentlich von den Zweiteilungsstadien. Unter den gefärbten Präparaten fand ich nun zahlreiche 2, 4, 6 und 8 kernige Stadien. Die Kerne hatten alle die typische Form (Fig. 55) oder zeigten noch deutlich die Kennzeichen der eben überstandenen Mitose (Fig. 56); d. h. Chromatin und Achromatin des Binnenkörpers waren noch getrennt und nebeneinander gelagert. Fig. 56 zeigt bei einem solchen Stadium das Chromatin in eigentümlichen Doppelklumpen angeordnet. Da ich solche bei der üblichen Zweiteilung nie gesehen habe, so ist es möglich, daß diese Teilungen nach einem anderen Typus verlaufen als bei der Zweiteilung. Daß aber auch bei der multiplen Körperteilung die Kerne durch mitotische Zweiteilung auseinander hervorgehen, darauf weist auch die Anordnung des Plasmas hin, welche z. B. im vierkernigen Stadium noch deutlich erkennen läßt (Fig. 55), welche Kerne paarweise zusammengehören, indem sie vom gleichen Mutterkern abstammen.

Mehr wie 8 Kerne habe ich nie gefunden; nachdem dieser Zustand erreicht ist, zerfällt der Amöbenkörper in 8 Tochteramöben, welche direkt zu den gewöhnlichen vegetativen Stadien heranwachsen. Es ist dies eine interessante Analogie zur *Entamoeba coli*.

Für diesen Parasiten des menschlichen Darms gibt SCHAUDINN an, daß er entweder in freiem oder encystiertem Zustand 8kernig wird, um sodann 8 junge Amöben aus einem Muttertier hervorgehen zu lassen. SCHAUDINN deutet gewisse Stadien des Kerns, in denen das Chromatin in 8 Portionen der Kernmembran anliegt, als Anzeichen einer multiplen Kernteilung. Der Kern soll simultan in

8 Tochterkerne zerfallen, welche sodann zu den Kernen der 8 Tochteramöben werden.

Ich habe selbst früher solchen simultanen Kernzerfall bei Myxosporidien beschrieben (DOFLEIN 1898). Ich beginne aber neuerdings die meisten Angaben dieser Art sehr skeptisch zu betrachten. Nachdem ich gesehen habe, wie rasch die Kernteilungen bei vielen Protozoen verlaufen, wie vielfach Chromosomenbildung unter ähnlichen Bildern auftreten und wie oft schließlich pathologische Bildungen vorkommen, zweifle ich viele solche Fälle angeblicher multipler Kernteilung an.

Was speziell die Amöben anlangt, so hat neuerdings WENYON bei *Amoeba muris* beobachtet, daß die Achternüchtigkeit der Cysten durch drei aufeinanderfolgende regelrechte Kernmitosen herbeigeführt wird.

Agame Teilung in den Cysten tritt in ganz ähnlicher Weise wie ich sie hier für *Amoeba vespertilio* beschrieben habe, nach GRASSI, CASAGRANDE, BARBAGALLO und SCHAUDINN bei *Entamoeba coli*, nach BÜTSCHLI und SCHUBOTZ bei *A. blattae* auf. Es erscheint mir nicht ganz unwahrscheinlich, daß die von SCHEEL (99) beschriebenen Cysten von *Amoeba proteus* ein agames Teilungsstadium, analog dem hier erörterten, darstellen.

D. Die Riesenkernbildung der *Amoeba vespertilio*.

In einer allgemeinen Erörterung über die Natur der Protozoenkerne habe ich (DOFLEIN 1907) die sehr eigenartige Riesenkernbildung, welche ich bei *Amoeba vespertilio* beobachtet hatte, schon kurz erwähnt. Wie ich schon damals schilderte, trat nach mehreren Wochen andauernder Züchtung in einer Kultur plötzlich eine merkwürdige Veränderung auf. Viele Tiere zeigten eine sehr geringe Beweglichkeit, sie waren mehr oder minder rundlich zusammengeballt, bildeten nur kurze lappenförmige Pseudopodien; im Innern vieler Exemplare konnte man einen großen kugelförmigen Körper erkennen, welcher schwärzlich aus dem stark gekörnelten wenig durchsichtigen Protoplasma hervorschimmerte. Zu gleicher Zeit war das Wasser des Kulturgefäßes von einer Unmenge kleinster Flagellaten erfüllt, welche vielfach copulierten. Ich wurde sogleich an die Vermehrungsvorgänge von *Paramoeba eilhardi* und bei Foraminiferen erinnert und suchte die Vorgänge bei meiner Amöbe möglichst genau kennen zu lernen. Da die Undurchsichtigkeit der Individuen das Studium am

lebenden Tier sehr erschwerte, so tötete ich einen Teil der Kultur ab, um die feineren Strukturen am konservierten Objekt zu studieren.

Außer einer Anzahl von Individuen, welche sich in keiner Weise von den normalen agamen Formen unterschieden, fanden sich da nun zahlreiche Exemplare mit sehr abgeändertem Kernbau, welche eine vollständige Serie der Entwicklung von Riesenkernen darboten. Diese Rieskerne dürfen nicht mit den Riesenkernbildungen verwechselt werden, wie sie R. HERTWIG bei *Actinosphaerium* durch Herbeiführung von Depressionszuständen experimentell zu erzeugen vermochte. Vielmehr ließ sich bei ihnen folgendes nachweisen:

Der Anfang der Veränderungen gab sich durch eine Anschwellung des ganzen Kernes kund. Leider waren die Objekte aus dieser Kultur nicht so gut konserviert, daß man alle Details der feineren Struktur hätte genau studieren können. Jedenfalls ließ sich eine Vergrößerung sowohl am Binnenkörper als auch in der peripheren Substanz nachweisen. Manchmal ließ sich in der letzteren auch noch eine Anhäufung stark färbbarer Substanz außer dem Binnenkörper nachweisen.

In den folgenden Stadien treten sehr auffallende Veränderungen ein. Der Binnenkörper wächst nicht mehr heran, dagegen nehmen die peripheren Bestandteile eine immer größere Ausdehnung an. Man erkennt dabei eine Einteilung der immer mächtiger anschwellenden Massen in zwei, vier oder acht Portionen. Dabei ist nicht ganz deutlich zu erkennen, ob diese Massen aus der peripheren Substanz selbst entstehen oder in sie eingelagert sind. Ich nehme jetzt das letztere an. Die stark wachsenden Gebilde sind mehr oder weniger kugelig gestaltet; indem sie bei ihrem Wachstum von der Randzone des Amöbenkerns umschlossen gehalten und gegeneinander gepreßt werden, platten sie sich an den Berührungsflächen ab (Taf. XVII Fig. 8 u. 11; Taf. XVIII Fig. 17, 19—21). Sehr auffallend ist, daß sie eine deutliche Hülle erkennen lassen, welche wie eine Membran jeden dieser Körper mit einer deutlichen Kontur umschließt. Diese Membran ist manchmal etwas gefältelt (Taf. XVIII Fig. 17, 18, 19—21). In manchen Fällen ist die Membran allerdings undentlich oder es ist gar nichts von ihr zu sehen (Taf. XVII Fig. 10).

Ich nehme an, daß während des Wachstums der Kerneinschlüsse eine Teilung in vier oder acht Portionen stattfinden kann, doch scheint dieselbe auch unterbleiben zu können. Zu anderen Fällen scheint es auch zu einer viel weiter gehenden Teilung in kleinere Portionen zu kommen. Doch kann man in solchen Fällen keine die

einzelnen Portionen umschließenden Membranen erkennen (Taf. XVII Fig. 9 Nd).

Innerhalb der einzelnen Körper erkennt man eine feingrannlierte Plasmamasse, welche hier und da recht deutlich einen alveolären Bau erhalten zeigt. Sie ist im gefärbten Präparat von zahllosen stark die Farbe annehmenden Brocken erfüllt, welche eine sehr regelmäßige Anordnung zeigen (Fig. 10 u. 11). Es sind dies offenbar Kerne. Ob schon frühzeitig um jeden derselben eine Plasmaportion sich abgrenzt, kann ich nicht mit Bestimmtheit sagen. Jedenfalls war eine solche Abgrenzung in meinen Präparaten nicht wahrnehmbar. Nach später an anderen Objekten gemachten Erfahrungen möchte ich jedoch ihr Vorhandensein in ziemlich frühen Stadien annehmen.

Während des Wachstums der ganzen Gebilde innerhalb des Amöbenkernes hat sich dessen Membran immer mehr erweitert, so daß der Amöbenkern schon eine recht beträchtliche Größe erreicht hat, in diesem Stadium einen Durchmesser von ca. 30 μ . Der Binnenkörper wurde dabei zur Seite gedrängt, meist liegt er in einer Falte zwischen den Kugeln, peripher der Amöbenkernmembran anliegend. Die gegenseitige Anordnung der von der Amöbenkernmembran umschlossenen Gebilde wird aus den Figuren 19, 20 u. 21 ersichtlich, von denen Fig. 19 dem Amöbenkern bei oberflächlicher Einstellung, Fig. 20 denselben im optischen Durchschnitt, Fig. 21 bei noch tieferer Einstellung zeigt.

In den anschließenden Stadien wird der Binnenkörper immer mehr zur Seite gedrängt, er wird durch Druck in die Länge gezerzt und zerfällt öfter in mehrere Portionen (Taf. XVII Fig. 8). Später zerfällt er endlich ganz in unregelmäßige Brocken und ist schließlich gar nicht mehr nachweisbar.

Schließlich ist der Amöbenkern zu einer wahrhaft monströsen Größe angewachsen; er nimmt mehr als die Hälfte des ganzen Amöbenleibes ein (Taf. XVII Fig. 12). Ein Tier mit einem solchen Riesenkern bietet einen ganz fremdartigen Anblick dar.

Meist zeigt sich der Riesenkern auf dieser Entwicklungsstufe im Umriß regelmäßig kreisförmig, er ist also offenbar von der Gestalt einer Kugel. Die äußere Kontur ist scharf und regelmäßig. Das Innere ist vollkommen gleichmäßig von den Chromatinbrocken erfüllt, welche so angeordnet sind, daß man den Eindruck erhält, als seien sie immer in den Knotenpunkten eines alveolären Plasmas angebracht. Besonders fällt die reguläre Anordnung der in paralleler Schicht der Amöbenkernmembran zunächst liegenden Brocken an.

Vielfach sieht man die in parallelen Reihen angeordneten Chromatinbrocken Reihe für Reihe miteinander alterieren.

Vom Binnenkörper ist keine Spur mehr zu sehen; auch die Membranen der einzelnen Körper sind verschwunden; nur einige Zwischenräume oder Spalten (Taf. XVII Fig. 12) deuten an, wo sich früher die Membranen berührten (Taf. XVII Fig. 12 Sp).

Die lebenden Amöben in diesem Stadium zeigen noch eine gewisse Beweglichkeit; vor allem sind bei manchen Individuen starke Strömungen im Protoplasma erkennbar. Ungefähr wenn die Entwicklung diesen Grad erreicht hat, pflegt die „Kernmembran“ des Riesenkerns zu zerreißen und die kleinen Körper, welche je einen der kleinen neu entstandenen Kerne umgeben, geraten in das Plasma der Amöben. Da werden sie von den Strömungen umhergetragen. So entstehen Bilder, wie sie Taf. XVII Fig. 13 zeigt. Noch kann man an der Anordnung einzelner Kerne sehen, wie sie im Riesenkern der Amöbe gelagert waren. Dies Bild zeigt eine sehr regelmäßige Gruppierung der Kernchen zu je zweien. Es ist unklar und bei der Kleinheit des Objekts schwer zu entscheiden, ob dies nur durch die alveoläre Struktur der plasmatischen Grundsubstanz bedingt ist, oder ob vielleicht eine allgemeine Teilung der minutiösen Kerne stattgefunden hat, welche noch an der paarweisen Gruppierung je zweier Tochterkerne von gemeinsamer Abstammung erkennbar wäre.

Fig. 14 zeigt eine Amöbe, deren Oberfläche eine lebhaft wogende Bewegung erkennen ließ. An zahlreichen Stellen stülpten sich zitronenförmige Aussackungen vor, schließlich platzte die Amöbe und eine Masse kleiner Körper wurde herausgepreßt, welche mit Hilfe je einer Geißel sich sofort in wirbelnde Bewegung setzten. Innerhalb der zurückbleibenden Amöbenleiche ließen sich noch Reste von Protoplasma mit chromatischen Bestandteilen nachweisen.

Die ausgeschwärmten kleinen Flagellaten waren von ovaler Körpergestalt, hinten etwas zugespitzt, vorn abgestumpft (Taf. XVIII Fig. 22). Sie ließen mit aller Deutlichkeit eine am Vorderende in einer kleinen Vertiefung entspringende Geißel erkennen; manchmal glaubte ich noch eine zweite nach hinten gerichtete Geißel zu sehen. Im Innern des Körpers war in dem granulierten Plasma in der vorderen Hälfte ein undeutlich konturierter Kern und in der hinteren Körperhälfte eine sehr stark lichtbrechende Kugel zu erkennen. Im gefärbten Zustand zeigte sich das Plasma sehr chromatinreich, der Kern chromatinarm. Er war bläschenförmig mit einem stärker färbaren Binnenkörper.

Die Flagellaten erfüllten schwärmend die ganze Kultur. Bald sah man einzelne Individuen sich gegenseitig umtanzen und nach wenigen Minuten konnte man die oft beschriebenen Vorgänge einer typischen Gametencopulation beobachten. Je zwei Individuen näherten sich einander, umtanzten sich (Taf. XVIII Fig. 23 u. 26), schmiegteten sich aneinander, entfernten sich voneinander, um sogleich das Spiel wieder zu beginnen. Dann legten sie sich aneinander, wobei die Geißeln nach entgegengesetzten Richtungen ragten, um wie rasend umeinander zu wirbeln (Taf. XVIII Fig. 26). Als sie nach einigen Minuten ruhiger wurden, waren sie mit den Vorderenden verschmolzen. Die Umrisse waren etwas unregelmäßig geworden (Fig. 27). Die Copula rundete sich allmählich unter amöboiden Bewegungen ab (Taf. XVIII Fig. 28 u. 29), bildete dann eine Cystenhülle, worauf eine kurze Cystenruhe erfolgte (Taf. XVIII Fig. 30).

Manchmal erfolgt auch die Verschmelzung weniger stürmisch, indem sich die Gameten aneinander legen, die Geißeln einziehen (Taf. XVIII Fig. 24 u. 25) und ohne amöboide Bewegungen verschmelzen. In den Cysten sind die Kerne schon verschmolzen (Taf. XVIII Fig. 36 u. 37), offenbar erfolgt die Verschmelzung derselben ungefähr gleichzeitig mit der Vereinigung der Körper (Fig. 35).

Aus den kleinen Befruchtungscysten welche einkernig sind und bleiben, können schon nach kurzer Zeit (1—2 Tagen) kleine Amöben hervorgehen, welche den jungen durch multiple vegetative Teilung entstandenen Exemplaren der *Amoeba vespertilio* sehr ähnlich sind (Fig. 31—33).

Solche waren ebenfalls in der Kultur vorhanden und es war daher, da die jungen Tiere lebhaft umherkrochen, sehr schwer, die Individuen dauernd zu beobachten und Verwechslungen zu vermeiden.

Es war fast selbstverständlich, daß ich zunächst glaubte, die geschlechtliche Fortpflanzung von *Amoeba vespertilio* beobachtet zu haben. In vielen Punkten schien sich eine enge Beziehung zu den bei anderen Rhizopoden durch SCHAUDINN beschriebenen Fortpflanzungserscheinungen zu ergeben. Es schien nicht absurd, daß eine Amöbe in manchen Details an die Fortpflanzung der Foraminiferen erinnerte; auch was an Radiolarien gemahnte, konnte bei einem primitiven Rhizopoden ganz wohl vorkommen. Und wenn man den oben angedeuteten Vergleich der Randschicht des Kerns mit einem Chromidialnetz eines Thalamophoren, des Binnenkörpers mit dem Prinzipalkern eines solchen durchführte, dann konnten sogar die Postulate der SCHAUDINN'schen Theorie von der Zweikernigkeit der Protozoenzelle erfüllt scheinen.

obachtet hat. Und mit der steigenden Zerstörung des Kernes gehen immer mehr die wichtigen Funktionen der lebenden Zelle zurück. Immerhin persistieren sie noch in einem Stadium, in welchem das innere Gefüge des Kernes vollkommen zerstört ist. Bewegung, Nahrungsanfnahme und Tätigkeit der contractilen Vacuole sind noch an Individuen im Stadium der Fig. 10 und 12 nachweisbar. Es geht also aus diesen Erfahrungen hervor, daß zu diesen Funktionen der Zelle, welche in kernlosen Fragmenten sehr bald aufhören, nur bestimmte Substanzen des Kernes, nicht eine bestimmte Gesamtstruktur desselben notwendig ist.

Bemerkenswert ist, daß keiner der bisherigen Beobachter bei der Infektion durch diesen Kernparasiten eine Kernteilung beobachtet hat. Die Störung im Kerngefüge und das Aufhören der gesetzmäßigen Beziehungen zwischen Kern und Protoplasma verhindern eine solche.

Wie weit die Lebensfähigkeit einer solchen Protozoenzelle mit fast gänzlich zerstörtem Kern geht, kann man mit Hilfe der Beobachtungen an *A. vespertilio* nicht entscheiden. Denn nach einer gewissen Zeit platzt stets der Kern und die Membran der *Nucleophaga*. Dann wird das Plasma des Wirts angegriffen und bald das ganze Tier zerstört.

DANGEARD hat in seiner Arbeit auch eine Anzahl von Schlußfolgerungen gezogen, welche zur Zeit ihres Erscheinens (1895) wohl einige Berechtigung hatten, welche er aber heute wohl kaum in der gleichen Weise aussprechen würde. In diesem Sinn sind sie auch von PENARD (1905) schon kritisiert worden.

Die Beziehungen, welche DANGEARD zu den histologischen Differenzierungen bei Krankheiten höherer Tiere, besonders bei Tumoren und bei Carcinomen vermutet, sind nach dem gegenwärtigen Stand unseres Wissens wohl sehr entfernte.

Mehr Beachtung verdient, was er über die Angaben anderer Autoren über die geschlechtliche Vermehrung bei Protozoen, sowie über eigenartige Kernstrukturen bei solchen bemerkt.

Der Fortschritt der Protozoologie seit jener Zeit hat uns ja eine größere Anzahl unanfechtbarer Zeugungskreise von Protozoen kennen gelehrt. Es ist also nicht möglich mit DANGEARD: „de faire table rase des diverses théories émises au sujet de la reproduction sexuelle des Rhizopodes.“ Viele der seither beschriebenen Fälle von geschlechtlicher Vermehrung bei den Protozoen können in keiner Weise mit Parasitismus in Zusammenhang gebracht werden. Immer-

hin müssen uns so komplizierte und eigenartige Fälle von Parasitismus zu großer Vorsicht in der Beurteilung der bei vielen Protozoen zu beobachtenden Schwärmsporen mahnen. Es ist in vielen Fällen nur durch langandauernde, vorsichtige Untersuchung und durch Anwendung von viel Kritik möglich, zu entscheiden, ob wirklich Parasitismus oder geschlechtliche Vermehrung vorliegt. Im Fall der *Amoeba vespertilio* hatte ich z. B. damit zu rechnen, daß die ausgeschwärmten Sporen des einen der Parasiten nach der Conjugation bald wieder beweglich wurden. Wie leicht kann da, bei der Beobachtung des lebenden Objekts im hängenden Tropfen, einer Beobachtung, welche sich oft über viele Stunden oder gar über mehrere Tage hinzieht, eine Verwechslung vorkommen: Vor allem, wenn es infolge der Kleinheit der Objekte unmöglich ist, eine vollkommene Isolierung des zu beobachtenden Tiers vorzunehmen.

Wer längere Zeiten Kulturen von Protozoen gezüchtet hat, weiß, wie sehr dieselben durch verschiedenartige Parasiten gefährdet sind. Die Protozoen sind dem Parasitismus durch andere Protozoen, vor allem Rhizopoden, Flagellaten und Acineten sowie durch Bakterien und niedere Pilze ebenso sehr ausgesetzt, wie etwa die Schmetterlingsraupen dem Parasitismus durch Ichnemoniden und Tachiniden.

Der *Nucleophaga* schließt sich in dieser Beziehung der neuerdings von PRANDTL (1907) bei *Amoeba proteus* und bei *Euglena* unter dem Gattungsnamen *Allogromia* beschriebenen Parasit an. Viele ähnliche Beispiele sind in früherer Zeit durch zahlreiche Forscher schon kurz beschrieben worden. Ich habe in den letzten Monaten in meinen Kulturen Parasiten im Plasma von *Arcella* und *Pyxidicula*, in dem Chromidialnetz von *Diffflugien*, in den Kernen von *Pelomyxa* und *Paramaecium*, sowie eine sehr interessante Mastigamöbe im Plasma von *Stentor coeruleus* beobachtet.

Alle diese Beispiele mahnen zur größten Vorsicht und Kritik in der Auslegung von Befunden an Protozoen. Es wird oft die Entwicklung solcher Parasiten sehr schwer von der normalen Entwicklung ihres Wirts zu unterscheiden sein, wenn die beschriebenen Entwicklungszyklen verschiedener Rhizopoden sich als richtig beobachtet herausstellen. Schon deswegen, aber auch wegen der wichtigen biologischen Aufschlüsse, welche wir von solchen Studien erwarten dürfen, ist die Erforschung der Parasiten der Protozoen von großer Bedeutung.

- (1895): Über die Teilung von *Amoeba binucleata*. Sitz-Ber. d. Ges. Naturf. Freunde Berlin 1895 p. 130.
- (1903): Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Bd. 19 p. 547.
- SHEEL, C. (1899): Beiträge zur Fortpflanzung der Amöben. Festschr. f. KUPFFER. Jena 1899 p. 569.
- SCHUBOTZ, H. (1905): Beiträge zur Kenntnis der *Amoeba blattae* BÜTSCHLI und *A. proteus* (PALL.). Arch. f. Protistenk. Bd. 6 p. 1.
- SCHULZE, F. E. (1875): Rhizopodenstudien. Arch. f. mikr. Anat. Vol. XI p. 592.
- SCHOUTEDEN, H. (1905): Notes sur quelques Amibes et Choanoflagellates. Arch. f. Protistenk. Bd. 5 p. 322.
- VAHLKAMPF, E. (1905): Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von *Amoeba limax* einschließlich der Züchtung auf künstlichen Nährböden. Arch. f. Protistenk. Bd. 5 p. 167.
- VERWORN, M. (1896): Die polare Erregung der lebenden Substanz etc. IV. Mitteilung. Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 65.
- WENYON, C. M. (1907): Observations on the Protozoa in the Intestine of Mice. Arch. f. Protistenk. Suppl.-Bd. I.

Tafelerklärung.

Tafel XVII.

- Fig. 1. Kleines Exemplar von *Amoeba vespertilio* PENARD, nach dem Leben. *A* Zoochlorellen. *Na* gefressene Alge.
- Fig. 2. Gefärbtes Exemplar. *Nu* Nahrungskörper. *N* Kern (speziell periphere Substanz). *Nu* Binnenkörper des Kerns.
- Fig. 3. Zwei Individuen, aus einem durch Teilung hervorgegangenen, im Moment der Trennung. Zugleich Habitusbild mit charakteristischen Bewegungspseudopodien (nach dem Leben). *N* Kern. *Cv* contractile Vacuole.
- Fig. 4. Konserviertes, gefärbtes Individuum mit Kernteilungsspindel. *T* konzentriertes Chromatin des Tochterkernes. *V* Vacuole. *ck* central-kornartige Verdickung an dem einen Spindelpol.
- Fig. 5. Konserviertes Individuum mit zwei Kernen und großer Vacuole. Die Kerne zeigen Sporen einer kurz vorher erfolgten Teilung. *N* Kerne. *T* Chromatin der Tochterplatten. *L* neue Kernblase, aus der peripheren Substanz gebildet. *Sk* wahrscheinlich zusammengeballter Rest der Spindelsubstanz.
- Fig. 6. Vorübergehende Cystenbildung von *Amoeba vespertilio* PEN. *Cv* contractile Vacuole. *G* pseudopodenartige Ausläufer der gallertigen Cystenhülle.
- Fig. 7. Amöbe mit beginnender Riesenkernbildung. *Na* Nahrungskörper. *Nu* Binnenkörper des Amöbenkernes. *L* durch Parasitismus veränderte periphere Substanz.

Tafel XIX.

(Sämtliche Figuren dieser Tafel beziehen sich nur auf *Amoeba vespertilio* PEN.)

Fig. 39. Typische Ahkugeln von *Amoeba vespertilio* vor der Teilung.

Fig. 40. Längsstreckung des sich teilenden Tieres.

Fig. 41. Biskuitform des sich teilenden Tieres.

Fig. 42 u. 43. Allmähliches Aneinanderweichen der Teilhälften. Neubildung von lappigen, spitzen Pseudopodien.

In Fig. 39—43: *Cv* contractile Vacuole. *Pp* die charakteristischen kleinen Pseudopodien der Teilungsstadien. *Z* Zoochlorellen. (Diese Figuren nach dem Leben.)

Fig. 44—57 nach konservierten und gefärbten Präparaten.

Fig. 44. Zerfall des Chromatins im Binnenkörper einer *A. vespertilio* in chromosomenartige Stränge.

C periphere Substanz. *Cc* Chromosomen (?).

Fig. 45—47. Ruhende Kerne von *A. vespertilio*.

C periphere Substanz. *Cc* Chromatin des Binnenkörpers. *L* achromatisches Gerüst des Binnenkörpers. *M* größere, stark färbbare Gebilde im Binnenkörper. *Z* Zoochlorellen in der Umgebung des Kernes.

Fig. 48. Frühstadium der Kernteilung. Spindelbildung des Binnenkörpers.

A Äquatorialplatte in zwei Tochterplatten gespalten. *C* periphere Substanz.

Ca peripheres Chromatin in einem Gürtel angeordnet. *Sp* Binnenkörperspindel. *Pp* Pseudopodien.

Fig. 49. Etwas früheres Stadium des Kernes.

A Äquatorialplatte, reihenweise angeordnete Chromatinkörner. *Nm* Membran des ganzen Kerngebildes. *C* periphere Substanz. *Nuk* hinter der Binnenkörperspindel liegende stark färbbare Klumpen. *Z* im umgebenden Plasma liegende Zoochlorellen.

Fig. 50. Gestreckte Spindel des Amöbenkernes.

Sp etwas gedrehte Fasern der Hauptspindel. *Pm* Polfasern des Spindelmantels. *T₁ T₂* Chromatinmassen der beiden Tochter-Binnenkörper. *Z* Zoochlorellen.

Fig. 51 u. 52. Sukzessive Stadien der Mitose.

C allmählich sich wieder sondernde periphere Substanz. *T₁ T₂* die Tochter-Binnenkörper. *Sp* Spindelsubstanz. *Pm* polare Teile der Spindelsubstanz. *Spr₁ u. 2* Reste der Spindel. *Cr* Chromatinbrocken. *Z* Zoochlorellen.

Fig. 53. Teilungsbild entsprechend dem Stadium der Fig. 40.

Fig. 54. Ebenso entsprechend Fig. 41.

N₁ N₂ die Tochterkerne mit *C* der noch getrennten peripheren Substanz und *Sp* dem Rest der Spindel.

Fig. 55. Agame Teilungscyste. Stadium mit 4 Kernen. Paarweise Zusammengehörigkeit der Kerne deutlich. *N₁ + N₂* und *N₃ + N₄*.

M die Cystenhülle.

Fig. 56. Agame Teilungscyste mit 6 Kernen. Zusammengehörige Kernpaare (*N₁ + N₂*) (*N₃ + N₄*) (*N₅ + N₆*). Bemerkenswerte Sonderung der Substanzen im Kern.

Fig. 57. Agame Teilungscyste mit 8 Kernen. Zusammengehörige Kernpaare (*N₁ + N₂*) (*N₃ + N₄*) (*N₅ + N₆*) (*N₇ + N₈*).

Figuren bei verschiedenen Vergrößerungen gezeichnet. Maße im Text angegeben.





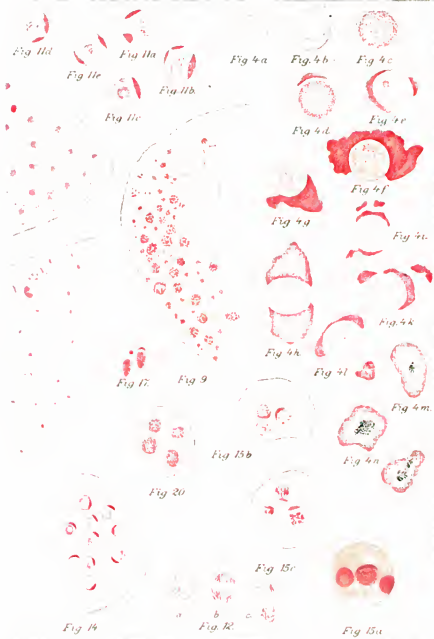




Fig. 2.



Fig. 5.



Fig. 21.

Fig. 22b.

Fig. 22d.

Fig. 22c.

Fig. 2.

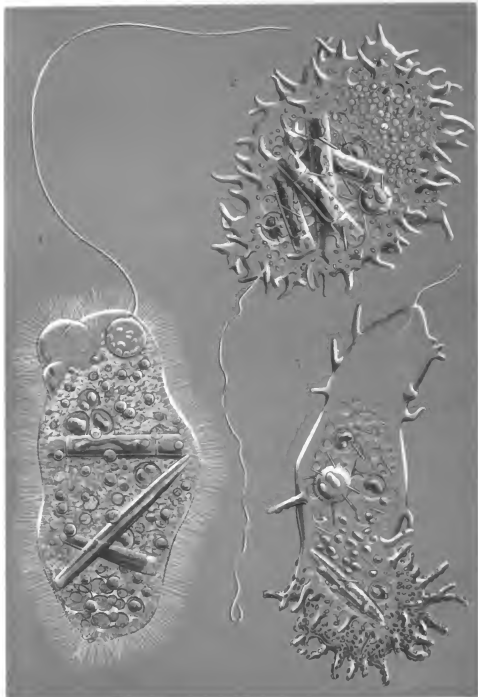
Fig. 29a.

Fig. 29b.

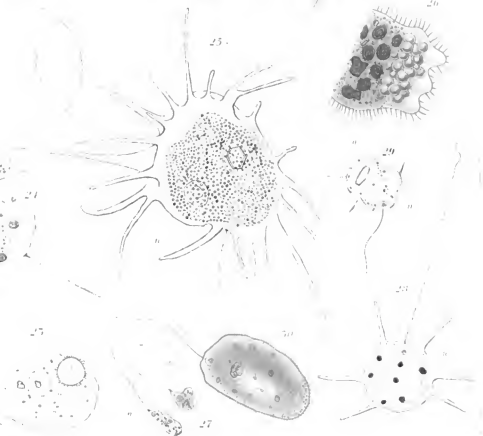
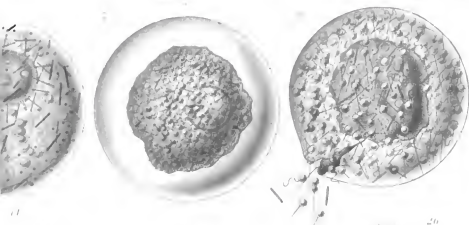
Fig. 27.

Fig. 16.

Fig. 26d.

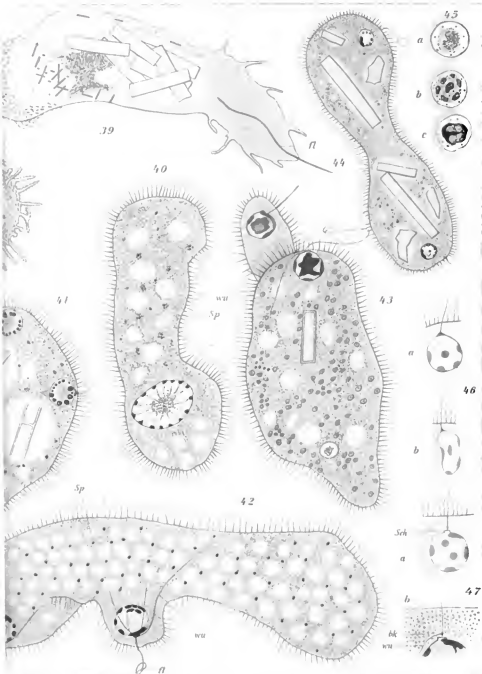


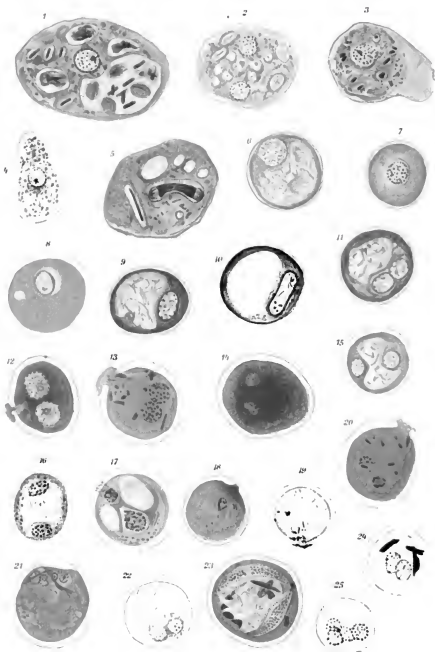


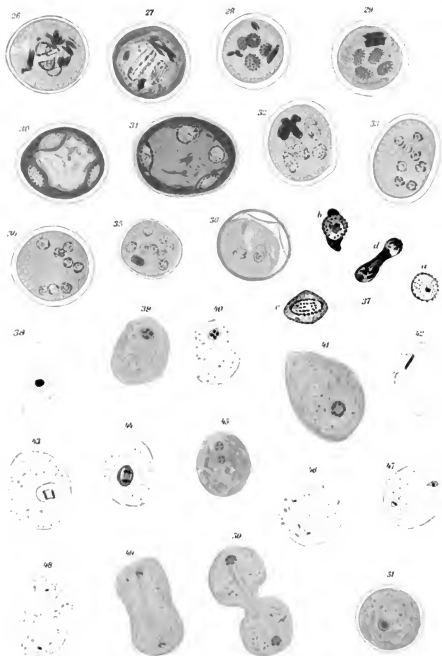


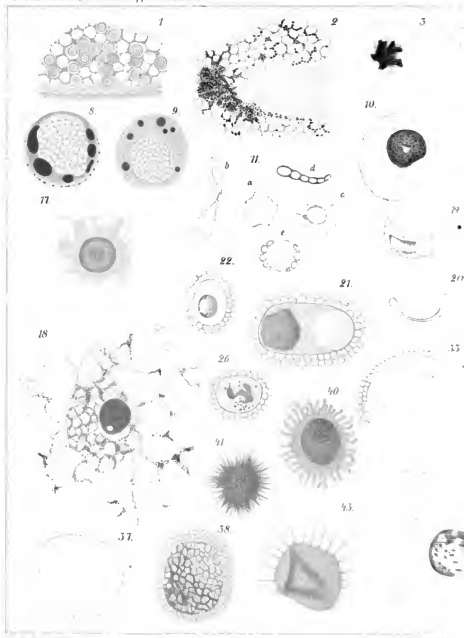


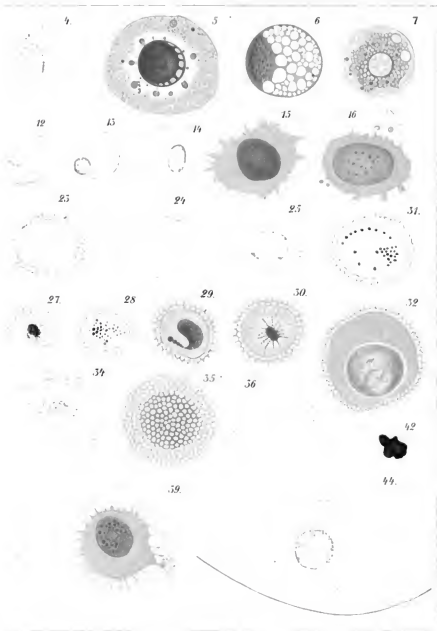
Taf. 7.











46

47

48

49

50.

49

51.

52

53

54

55

56

57

58



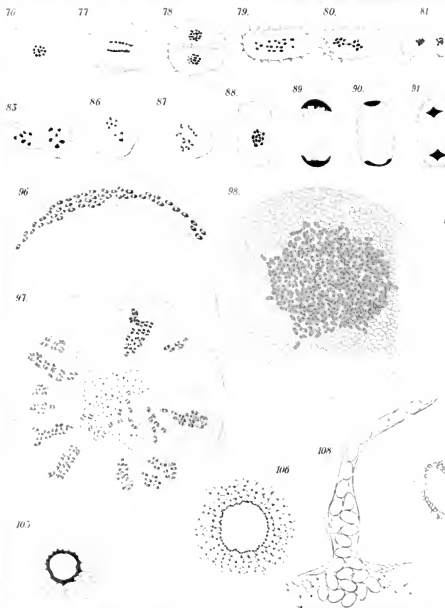
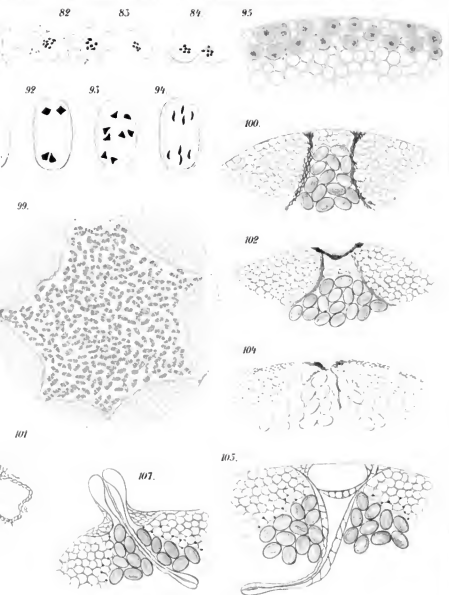


Fig. 10. *Stentor* sp.

— 105 —



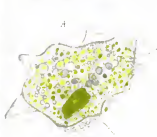


Fig. 1.

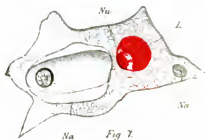


Fig. 7.



Fig. 2.



Fig. 4.



Fig. 11.

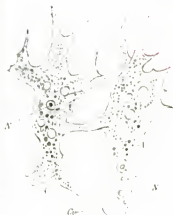


Fig. 3.



Fig. 5.

